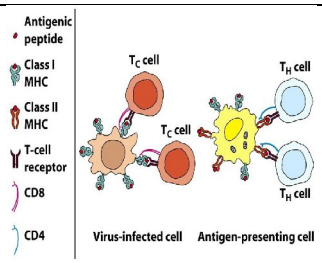
فصل اول

مروری بر سیستم ایمنی

- جنبه تاریخی
- مطالعات اولیه ایمنی هومورال و سلولی
- چالش‌های نظری
- عفونت و ایمنی
- ایمنی ذاتی و اکتسابی
- نقص عملکرد ایمنی و پیامدهای آن

www.bbooks.ir



سیستم ایمنی برای دفاع از بدن در برابر پاتوژن‌های متنوعی مثل ویروس عامل فلج اطفال و کرم‌های پهن که موجب شیستوزومیازیس می‌شوند، سازگار شده است. سیستم ایمنی از طیف وسیعی از سلول‌ها و مولکول‌های تخصص یافته به وجود آمده که قادر به شناسایی و از بین بردن عوامل مهاجم و بیگانه می‌باشند؛ تمام این عوامل در یک شبکه پویا با یکدیگر فعالیت می‌کنند.

حفاظت بدن توسط سیستم ایمنی را می‌توان به دو بخش شناسایی و پاسخ تقسیم کرد. شناسایی ایمنی، همان قابلیت سیستم ایمنی در تشخیص و تفکیک عوامل بیگانه از اجزای خودی می‌باشد. سیستم ایمنی قادر به شناسایی و عکس‌العمل قاطع و سریع در برابر الگوهای مولکولی که خصوصیات گروهی از پاتوژن‌های معمول می‌باشند،است. سیستم ایمنی حتی می‌تواند تفاوت‌های شیمیایی که موجب تشخیص یک پاتوژن از سایر پاتوژن‌ها می‌شود را به صورت دقیق شناسایی کند. علاوه بر این موارد، سیستم ایمنی می‌تواند بین مولکول‌های بیگانه و سلول‌ها و مولکول‌های خود بدن تفاوت قائل شود (تمایز خودی از غیر خودی) و همچنین این سیستم قادر به تشخیص سلول‌های تغییر یافته میزبان که می‌توانند به سرطان منجر شوند،می‌باشد. تشخیص پاتوژن توسط سیستم ایمنی، موجب راه‌اندازی یک پاسخ اجرایی می‌شود که منجر به از بین بردن یا خنثی کردن عوامل مهاجم می‌گردد. چندین جزء از اجزای سیستم ایمنی قادر به تغییر پاسخ‌های تشخیص اولیه به انواعی از پاسخ‌های مؤثر شوند که هر کدام از آنها به طور بی نظیری جهت از بین بردن نوع خاصی از پاتوژن مناسب می‌باشند. یکی از ویژگی‌های جالب توجه خاطره این است که مانع ابتلای ما به برخی از

www.bbooks.ir

بیماری‌ها برای دومین بار می‌شود. خاطرهٔ ایمنی اساس و مبنای واکسیناسیون بوده و ابـزاری جهت آموزش سیستم ایمنی به منظور آماده سازی آن برای حملات بعدی می‌باشند.

می‌بایست به این نکته توجه کرد که دو نوع سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی وجود دارد کـه در حفاظت از بدن ما با یکدیگر همکاری می‌کنند. ایمنی ذاتی شامل مکانیسم‌هـای سـلولی و مولکولی بوده که قبل از ایجاد عفونت سازماندهی شده و از آن جلوگیری کرده یـا آن را از بین می‌برند. این خط دفاعی کارآمد و اولیه در همان ابتدا از بسیاری عفونـت‌هـا جلـوگیری کرده و برخی عفونت‌ها طی چند ساعت پس از برخورد با سیستم ایمنی ذاتی از بین می‌روند. عناصر تشخیصی سیستم ایمنی ذاتی به صورت دقیقـی بـین پـاتوژن و خـودی تمـایز قائـل می‌شوند ولی به منظور تشخیص تفاوت‌های ناچیز در مولکـول‌هـای بیگانـه تخصـص یافتـه نمی‌باشند.

دومین سیستم ایمنی با نام ایمنی اکتسابی شناخته می‌شود که طی پاسخ به عفونت، شـکل گرفته و به منظور تشخیص، ریشه‌کنی و سپس یادآوری پاتوژن‌هـای مهـاجم سـازگار شـده است. ایمنی اکتسابی مشروط به ایمنی ذاتی بوده و چندین روز پس از عفونـت اولیـه ایجـاد می‌شود. ایمنی اکتسابی یک خط دفاعی گسترده وثانویه را بوجود می‌آورد که موجب از بـین رفتن پاتوژن هایی می شود که از پاسخ ذاتی فرار کرده و یا علیرغم وجود این پاسـخ‌هـا، در بدن باقی مانده‌اند.

- جنبه تاریخی

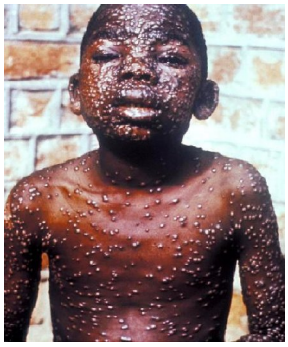
رشته ایمونولوژی از مشاهده افرادی که از یک بیماری عفونی خاص بهبود یافته و پـس از آن در برابر بیماری مصون می‌ماندند، شکل گرفت. واژهٔ لاتین immunis به معنای معـاف، ریشه کلمهٔ ایمنی است که به معنای وضعیت مصون از بیماری عفونی می‌باشد. شاید اولـین مرجع مکتوب برای پدیدهٔ ایمنی به Thucydides برگردد. او در سال ۴۳۰ قبل از میلاد در توصیف بیماری طاعون در آتن نوشت، تنها کسانی از این بیماری بهبود یافته‌اند، می‌توانند از

www.bbooks.ir

بیماران پرستاری کنند ؛ زیرا آنها برای بار دوم به بیماری مبتلا نمی‌شوند. با وجودی که جوامع ابتدایی پدیدهٔ ایمنی را می‌شناختند، ولی تقریباً پس از گذشت ۲۰۰۰ سال این مفهوم به طور موفقیت آمیزی به یک واژهٔ کارآمد در پزشکی مبدل گردید.

- بررسی‌های اولیه واکسیناسیون منجر به راهی به سوی ایمونولوژی گردیدند

اولین تلاش‌های گزارش شده به منظور القای عمدی ایمنی در قرن پانزدهم توسط چینی‌ها و ترک‌ها صورت گرفت. آنها تلاش کردند تا از آبله که در ۳۰ درصد موارد کشنده بود و درافراد بهبود یافته نیز تا آخر عمر بد شکلی به جای می‌گذاشت، پیشگیری کنند (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱: کودک افریقایی مبتلا به راش های مشخصه آبله بر روی صورت، سینه و بازوها. مرگ و میر آبله (ناشی از ویروس *واریولا ماژور*) ۳۰٪ می باشد. در افرادی که از بیماری جان سالم به در می برند اسکار زخم باقی می ماند.

گزارشات حاکی از آن هستند که پوسته‌های خشک شده ناشی از زخم‌های آبله در سوراخ‌های بینی استنشاق می‌شدند و یا در زخم‌های کوچک سطح پوست (روشی که مایه‌کوبی نامیده می‌شود) وارد می‌گردیدند، تا از این بیماری خطرناک جلوگیری شود. در سال ۱۷۱۸، خانم ماری ورتلی مونتاگو[1] همسر سفیر انگلستان در قسطنتنیه اثرات مثبت

1- Mary Wortley Mountagu

www.bbooks.ir

مایه کوبی بر روی جمعیت‌های بومی ترکیه را مشاهده نمود و این روش را بر روی فرزندان خود انجام داد. در سال ۱۷۹۸ ادوارد جنر(پزشک انگلیسی) پیشرفت بزرگی را در ایجاد عمدی مصونیت به وجود آورد. با در نظر داشتن این واقعیت که دختران شیردوش مبتلا به بیماری خفیف آبلهٔ گاوی، در برابر بیماری شدیدتر آبله مصون می‌شدند، جنر استنباط کرد که تزریق مایع پوستول آبلهٔ گاوی به افراد، می‌تواند موجب مصونیت آنها در برابر آبله شود. جهت آزمودن این فرضیه ، وی یک پسر ۸ ساله را با مایع پوستول آبلهٔ گاوی تلقیح نمود و سپس عمداً بچه را با آبلهٔ انسانی آلوده ساخت. چنان که پیش‌بینی می‌شد، بچه به آبله مبتلا نشد.

روش جنر در تلقیح آبله گاوی جهت حفاظت در برابر آبله انسانی ، به سرعت در سرتا سر اروپا گسترش یافت. با این حال، نزدیک به صد سال قبل، از چنین روشی برای سایر بیماری‌ها استفاده می‌شد. همانند اغلب وقایعی که در علوم رخ می‌دهد، خوش‌شانسی به همراه مشاهدات دقیق و هوشمندانه منجر به پیشرفت ایمونولوژی (مثل معرفی ایمنی در برابر وبا) گردید. لویی پاستور موفق شد باکتری عامل وبای ماکیان را کشت دهد. نقش این باکتری هنگامی اثبات شد که جوجه‌های تلقیح شده با محیط کشت این باکتری، دچار وبای کشنده شدند. وی پس از بازگشت از تعطیلات تابستانی، محیط کشت کهنهٔ باکتری را به چند جوجه تلقیح نمود. جوجه‌ها مریض شدند و پاستور شگفت‌زده شد که چرا آنها بهبود یافتند. سپس پاستور محیط کشت تازه‌ای از باکتری تهیه کرد تا آن را به جوجه‌های سالم تزریق کند؛ چنان که در داستان آورده شده، به کارگیری جوجه‌ها محدودیت‌هایی داشت، بنابراین او از جوجه‌هایی استفاده کرد که قبلاًمورد تزریق قرار گرفته بود. به طور غیر منتظره، جوجه‌ها در برابر بیماری ایمن شده بودند. پاستور اثبات کرد که با کهنه شدن کشت، قدرت بیماری‌زایی پاتوژن کاهش می‌یابد، به گونه‌ای که می‌توان سویه‌های تخفیف حدت یافته را به منظور مصونیت از بیماری به بدن تزریق کرد. او این سویه‌های ضعیف

www.bbooks.ir

شده را واکسن نامید (از واژهٔ لاتین Vacca به معنی گاو) که در تأیید و به افتخار عمل جنر در تلقیح آبلهٔ گاوی بود.

پاستور این یافته‌ها را در مورد سایر بیماری‌ها بسط داد تا این که اثبات نمود امکان تضعیف یک پاتوژن و تزریق آن به عنوان واکسن وجود دارد.

این بررسی‌ها نقطهٔ آغاز رشته ایمونولوژی بودند. در سال ۱۸۸۵، پاستور اولین واکسن انسانی خود را به یک پسر بچه که توسط یک سگ هار گاز گرفته شده بود تزریق کرد. (شکل ۱-۲) .

شکل ۲-۱: مایه کوبی جوزف میستر توسط لویی پاستور و دریافت واکسن هاری.

این پسر بچه که جوزف میستر نام داشت، توسط یک سری از ویروس‌های هاری تضعیف شده، تلقیح گردید، او زنده ماند و پس از آن به عنوان متولی مؤسسه پاستور لقب گرفت.

- واکسیناسیون یک اقدام جهانی و در حال پیشرفت می‌باشد

ضرورت مطالعهٔ ایمونولوژی و کشف واکسن‌ها وابستگی کامل این دو را نشان می‌دهد. کشف، توسعه و استفاده مناسب از واکسن‌ها، امروزه هنوز به صورت یک مشکل برای ایمونولوژیست‌ها باقی مانده است. در سال ۱۹۷۷ آخرین مورد شناختهٔ شدهٔ آبله انسانی در سومالی مشاهده شد. این بیماری خطرناک بواسطه کاربرد جهانی واکسنی نه چندان متفاوت با واکسن مورد استفاده جنر در سال ۱۷۹۰، ریشه کن شد. دستاورد این ریشه‌کنی، بی‌نیازی

www.bbooks.ir

به واکسیناسیون می‌باشد که مزیتی عمده به حساب می‌آید. با ایـن وجـود، توقـف عمـومی واکسیناسیون یک جنبه مضر نیز دارد. با گذشت زمان، به ناچار برخی افـراد غیـر ایمـن در جامعه، به این بیماری مبتلا خواهند شد. هنوز این احتمال وجود دارد که روزی این بیمـاری دوباره به واسطهٔ روش‌های غیر طبیعی بازگردد. در واقع به نظر می‌رسـد کـه آبلـه یکـی از تهدیدهای بالقوهٔ بیوتروریسم باشد. در پاسخ به این امر، واکسن‌های جدید و مطمئنی بر علیه آبله در حال توسعه و گسترش می‌باشند.

نقطهٔ عطف واکسیناسیون در مقایسه با ریشه کنی آبله، فلج اطفال می‌باشد که در آینده‌ای نزدیک، هدف ریشه‌کنی قرار خواهد گرفت. مبارزهٔ سازمان بهداشت جهانی به منظـور حـل این مشکل، متکی به برنامه‌های واکسیناسیون گسترده می‌باشد. این پروژه در مناطق خاصـی به علت شایعاتی که ایمن سازی موجب عقیمی مردان جوان می‌شود، دچـار رکـود شـد. در نتیجهٔ این مشکل، فلج اطفال در مناطق خاصی از آسیا و آفریقا دوباره فعال شد. اما می‌تـوان با آموزش و تبلیغ مزایای واکسیناسیون بر این مسئله فائق آمد. این حقیقت که فلـج اطفـال یک تهدید جهانی نبوده و در بسیاری از کشورها ریشه‌کن شده است. نبایـد موجـب نادیـده گرفتن و تأخیر در طرح‌های ریشه‌کنی شود.

در آمریکا و برخی جوامع صنعتی، واکسیناسیون موجب حذف بیماری‌های دوران کـودکی که تا ۵۰ سال گذشته یکی از مشکلات در حال گسترش بود، شده است . سرخک، اوریـون، سیاه سرفه، کزاز، دیفتری و فلج اطفال بیماری‌هایی هستند که به علت اقدامات واکسیناسیون مکرر، اصلاً وجود نداشته و یا بسیار نادر می‌باشند (جدول ۱-۱) .

www.bbooks.ir

TABLE 1-1 Cases of selected infectious disease before and after the introduction of effective vaccines

Disease	ANNUAL CASES/YR Prevaccine	Postvaccine	CASES IN 2004 Reduction (%)
Smallpox	48,164	0	100
Diphtheria	175,885	0	100
Measles	503,282	37	99.99
Mumps	152,209	236	99.85
Pertussis (whooping cough)	147,271	18,957	87.13
Paralytic polio	16,316	0	100
Rubella (German measles)	47,745	12	99.97
Tetanus ("lockjaw")	1,314 (deaths)	26 (cases)	98.02
Invasive hemophilus influenzae	20,000	172	99.14

SOURCE: Adapted from W. A. Orenstein et al., 2005. *Health Affairs* 24:599.

در کنار مرگ و میر و آسیب‌های ناشی از این بیماری‌ها، هزینهٔ درمان بیماران و پیامد و عوارض آنها مثل فلج، کری، کوری و عقب ماندگی ذهنی، ارزش ایمونیزاسیون را بالا می‌برند.

در برخی از بیماری‌ها، ایمونیزاسیون نه تنها روش دفاعی مؤثری می‌باشد، بلکه بهترین روش می‌باشد. به علت داروهای ضد ویروسی اندکی که امروزه در دسترس می‌باشند، دفاع اصلی برعلیه آنفولانزا یک واکسن مؤثر می‌باشد.در صورتی که یک آنفولانزای جهان‌گیر عود کند، مطابق با پیش‌بینی متخصصین، میزان شیوع و گسترش بیماری، متناسب با ساخت و تزریق یک واکسن مؤثر می‌باشد. در زمان نوشتن این مطلب، بایستی توجه بیشتری به ظهور سویه‌های آنفولانزای پرندگان معطوف داشت. در حدود ۲۰۰ مورد عفونت در انسان ثبت شده است که حدود نیمی از آنها کشنده می‌باشند. در صورتی که این ویروس به صورت مؤثر میان افراد شیوع پیدا کند، پاندمی بزرگی رخ خواهد داد. در سال ۱۹۱۸، به علت عدم دسترسی به یک واکسن پیشگیری کننده، پاندمی مخرب آنفولانزا، ۵۰ میلیون کشته برجای گذاشت.

علیرغم گزارش‌هایی مبنی بر موفقیت این واکسن‌ها و اطمینان ما از آنها، مخالفین برنامه‌های واکسیناسیون ادعا می‌کنند که این واکسن‌ها بیشتر از این که مفید باشند، می‌توانند مضر بوده و واکسیناسیون دوران کودکی را بایستی کاهش داد و یا حتی متوقف

www.bbooks.ir

ساخت. هیچ بحثی نیست که واکسن‌ها موجب القای ایمنی بی‌نظیری می‌شوند وقتی این واکسن‌ها به افراد سالم تزریق می‌شوند. علاوه براین ، یک اتفاق نظر وجود دارد که واکسن‌ها باید کنترل شده باشند و افراد جامعه باید اطلاعات کامل و واضحی از آنها در اختیار داشته باشند. اگر چه انتقاد از واکسن‌ها باید مورد ارزیابی قرار گیرد اما در بسیاری از موارد، مفید بودن آنها در آزمون‌های علمی اثبات شده است. یک مثال اخیر که ادعا می‌شد نگهدارندهٔ تیمروسول[1] حاوی جیوه که مثلاً در بسیاری از موارد در تهیه واکسن استفاده می‌شد، موجب اوتیسم می‌شود و مسئول افزایش بروز اختلالات اخیرمی‌باشد که مشخصه آن خود شیفتگی[2] و عدم توانایی ارتباط با دیگران است. دورهٔ پنجره که در مورد بسیاری از واکسن‌ها مطرح است، در مورد اوتیسم عموماً در یکی دو سال اول زندگی خود را نشان می‌دهد (فصل ۱۹) . دولت دانمارک گزارش دقیقی از سلامت شهروندان خود در مورد عوامل فرضی بین تیمروسول و اوتیسم را تهیه نمود. این بررسی‌ها نشان می‌دهند که بروز اوتیسم از سال ۱۹۹۲ به طور قابل توجهی در دانمارک افزایش یافته است. با این وجود، این گزارشات همچنان نشان می‌دهند که استفاده از تیمروسول به عنوان مادهٔ نگهدارندهٔ واکسن تا قبل از این در چندین کشور به صورت کامل متوقف شده بود. چنین داده‌هایی، ارتباط اوتیسم و استفاده از تیمروسول را مشکل ساخت و پیشنهاد می‌کند که جهت یافتن عوامل افزایش دهندهٔ اوتیسم، تحقیقات بیشتری به عمل آید. شاید بزرگترین مسئلهٔ رایج در توسعهٔ واکسن، فقدان وجود واکسن‌های مؤثر برای بیماری‌های بسیار کشنده مثل مالاریا و ایدز باشد. امید است تا ایمونولوژیست‌های امروزی با استفاده از ابزارهای زیست شناسی سلولی و مولکولی، ژنومیک و پروتئومیک در پیشگیری از این بیماری‌ها سریع‌تر اقدام کنند.

یک مسئلهٔ دیگر در مورد واکسن‌ها این واقعیت است که میلیون‌ها کودک در کشورهای در حال توسعه در نتیجهٔ بیماری‌هایی که توسط واکسن‌های مطمئن و موجود کاملاً قابل

1- thimerosol
2- self-absorption

www.bbooks.ir

پیشگیری است، می‌میرند. هزینه‌های بالای تولید، ناپایداری محصولات و مشکلات مربوط به عرضهٔ آنها، مانع مزایای این واکسن‌ها شده‌اند. این مشکلات با توسعهٔ واکسن‌های نسل آینده که ارزان و مقاوم به حرارت بوده و بدون سرنگ تجویز می‌گردند، کاهش می‌یابند.

- مروری بر ایمنی هومورال و سلولی

پاستور اثبات کرد که واکسیناسیون انجام شدنی است اما او نمی‌دانست که چگونه این عمل انجام می‌گیرد. کارهای آزمایشگاهی امیل فون بهرینگ[1] و شیباسابورو کتیاساتو[2] در سال ۱۸۹۰ اولین بینش‌ها را در مورد مکانیسم ایمنی بوجود آوردند تا این که فون بهرینگ در سال ۱۹۰۱ جایزه نوبل پزشکی را دریافت کرد (جدول ۱-۲).

TABLE 1-2 Nobel prizes for immunologic research

Year	Recipient	Country	Research
1901	Emil von Behring	Germany	Serum antitoxins
1905	Robert Koch	Germany	Cellular immunity to tuberculosis
1908	Elie Metchnikoff Paul Ehrlich	Russia Germany	Role of phagocytosis (Metchnikoff) and antitoxins (Ehrlich) in immunity
1913	Charles Richet	France	Anaphylaxis
1919	Jules Bordet	Belgium	Complement-mediated bacteriolysis
1930	Karl Landsteiner	United States	Discovery of human blood groups
1951	Max Theiler	South Africa	Development of yellow fever vaccine
1957	Daniel Bovet	Switzerland	Antihistamines
1960	F. MacFarlane Burnet Peter Medawar	Australia Great Britain	Discovery of acquired immunological tolerance
1972	Rodney R. Porter Gerald M. Edelman	Great Britain United States	Chemical structure of antibodies
1977	Rosalyn R. Yalow	United States	Development of radioimmunoassay
1980	George Snell Jean Dausset Baruj Benacerraf	United States France United States	Major histocompatibility complex
1984	Cesar Milstein Georges E. Köhler Niels K. Jerne	Great Britain Germany Denmark	Monoclonal antibodies Immune regulatory theories
1987	Susumu Tonegawa	Japan	Gene rearrangement in antibody production
1991	E. Donnall Thomas Joseph Murray	United States United States	Transplantation immunology
1996	Peter C. Doherty Rolf M. Zinkernagel	Australia Switzerland	Role of major histocompatibility complex in antigen recognition by T cells
2002	Sydney Brenner H. Robert Horvitz J. E. Sulston	S. Africa United States Great Britain	Genetic regulation of organ development and cell death (apoptosis)

فون بهرینگ وکتیاساتو نشان دادند که سرم[3] (اجزا و ترکیبات مایع بدون سلول که از خون لخته جدا می‌شوند) جانورانی که قبلاً علیه دیفتری ایمن شدند، می‌تواند ایمنی را به

1 -Emil von Behring
2- Shibasaburo Kitasato
3 -Serum

www.bbooks.ir

جانوران غیر ایمن انتقال دهد. در بررسی عوامل ایمنی‌زا، تحقیقات مختلف در طی دهۀ بعدی نشان دادند که یک ترکیب فعال از سرم ایمن می‌تواند توکسین‌ها را خنثی کرده، رسوب دهد و باکتری‌ها را آگلوتینه نماید. در هر سه مورد، عوامل را برحسب فعالیتی که از خود نشان می‌دادند نامگذاری کردند؛ به ترتیب آنتی توکسین، پرسی پیتین و آگلوتینین.

در ابتدا تصور می‌شد که ترکیبات مختلفی از سرم، مسئول هر کدام از این اعمال باشند، اما طی دهۀ ۱۹۳۰ با تلاش‌های الوین کابات[1] مشخص شد که قسمتی از سرم که در ابتدا گاماگلبولین نام گرفت و امروزه با نام ایمونوگلبولین[2] خوانده می‌شود، مسئول تمام این فعالیت‌ها می‌باشد. مولکول‌های فعال در بخش ایمونوگلبولین، آنتی‌بادی[3] نامیده شدند (واژه آنتی‌بادی و ایمونوگلبولین را می‌توان به صورت معادل یکدیگر به کار برد، اما معمولاً واژۀ آنتی‌بادی برای ایمونوگلبولین با ویژگی علیه یک آنتی‌ژن به کار می‌رود). بدلیل این که مصونیت ایمنی بواسطۀ آنتی‌بادی‌های موجود در مایعات بدن (humor) بوجود می‌آید. ایمنی هومورال نامیده می‌شود.

بررسی‌های فون بهرینگ و کتیاساتو در حوزۀ بالینی نیز به کار گرفته شدند. قبل از پیدایش درمان آنتی‌بیوتیک برای بیماری‌های عفونی، آنتی‌سرم‌هایی که اغلب از اسب‌ها تهیه می‌شدند، در بیماران مختلف مورد استفاده قرار می‌گرفتند. امروزه درمان‌ها به انتقال ایمونوگلبولین‌ها متکی بوده و با توسعه تکنولوژی آنتی‌بادی‌های منوکلونال، آنتی‌بادی درمانی به صورت یک روش تجاری مناسب درآمده است (بخش تمرکز بالینی فصل ۴). استفاده فوری از سرم‌های حاوی آنتی‌بادی ضد سم عقرب و مار در افرادی که مورد گزش قرار گرفته‌اند، یک شیوه معمول و رایج می‌باشد. اگر چه گفته می‌شود که واکسن منجر به القای ایمنی فعال[4] در میزبان می‌گردد، انتقال آنتی‌بادی با یک ویژگی معین منجر به ایمنی غیر

1- Elvin Kabat
2- Immunoglobulin
3 -antibody
4 - active immunity

www.bbooks.ir

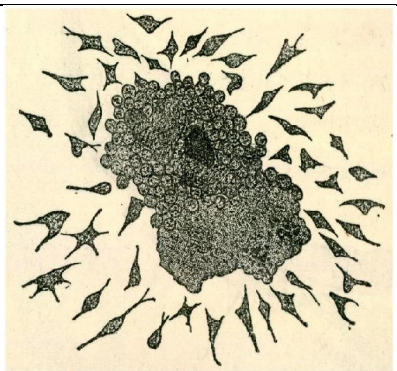
فعال[1] در میزبان می‌شود. نوزادان تازه متولد شده از ایمنی غیر فعال بهره می‌برند که ناشی از آنتی‌بادی‌های مادری موجود درگردش خون آنها می‌باشد. از ایمنی غیر فعال می‌توان به عنوان پروفیلاکسی برای کسانی که در معرض یک بیماری معین می‌باشند و همچنین افراد با ایمنی تضعیف شده استفاده نمود.

آنتی سرم‌های برخی توکسین‌های باکتریایی مثل دیفتری یا کزاز را می‌توان به افراد آلوده تزریق کرد تا از ایجاد بیماری توسط توکسین جلوگیری نماید. شکل نمایشی این کاربرد، اقدام امدادی سگ‌های سورتمه در ۶۷۴ مایل سرزمین یخبندان آلاسکا جهت منتقل کردن آنتی توکسین از فیربنکس[2] به کودکان مبتلا در شهر احاطه شده با یخ نوم[3] در طی یک شیوع دیفتری در سال ۱۹۲۵ بود. هر ساله این اقدام موفقیت‌آمیز در رقابت‌های سورتمه سواری با سگ، جشن گرفته می‌شود و یک تندیس از یکی از سگ‌های رهبر که در مرحلهٔ پایانی استفاده شد و بالتوم نام داشت در پارک مرکزی شهر نیویورک وجود دارد.

در سال ۱۸۸۳ حتی قبل از کشف این که ترکیبات سرم می‌توانند موجب انتقال ایمنی شوند، الی‌مچنیکوف[4] نشان داد که سلول‌ها نیز در ایجاد وضعیت ایمنی بدن یک جانور دخالت دارند. او مشاهده کرد که برخی سلول‌های سفید خونی که فاگوسیت[5] یا بیگانه خوار نامیده می‌شوند، میکروارگانیسم‌ها و مواد خارجی دیگر را بیگانه خواری می‌کنند (شکل ۱-۳).

1 -inactive immunity
3-Fairbanks
3 -Nome
4-Elie Metchnikoff
5 - Phagocyte

www.bbooks.ir



شکل ۳-۱: طرح ترسیمی مچنیکوف از سلول های بیگانه خوار پیرامون یک ذره خارجی. مچنیکوف اولین بار فرآیند بیگانه خواری را توصیف و نامگذاری کرد.

با توجه به این که هیچ یک از این سلول‌های بیگانه‌خوار در جانوران ایمن شده فعالیت بیشتری از خود نشان نمی‌دهند، مچنیکوف تصور کرد که سلول‌ها نسبت به اجزای سرم در ایمنی بدن نقش مؤثرتری دارند. سلول‌های بیگانه‌خوار فعالی که مچنیکوف تشخیص داده بوده احتمالاً منوسیت‌ها یا نوتروفیل‌های خونی بودند(فصل ۲).

- چالش‌های نظری

با وجود توسعه واکسن‌های مطمئن و مؤثر و استفاده از درمان‌های ایمنی غیرفعال (که انتقالی نیز نامیده می‌شوند) هنوزهم مشکلاتی در تحقیقات بالینی وجود دارد. سئوالات نظری گیج کننده‌ای نیز در ایمونولوژی به وجود آمد که ذهن جامعهٔ متخصصین را مشغول خود نمود.

سئوالی که در وهلهٔ اول مطرح می‌شود، نقش نسبی ایمنی سلولی و هومورال است. بحث بین کسانی که به مفهوم ایمنی هومورال عقیده داشتند و کسانی که با نظریه ایمنی سلولی مچینکوف موافق بودند، بالا گرفت. اکنون مشخص شده که هر دو نظریه صحیح بوده و پاسخ کامل ایمنی به هر دو پاسخ سلولی و هومورال نیازمند می‌باشد. بررسی اولیهٔ سلول‌های

www.bbooks.ir

ایمنی ، به علت عدم وجود مدل‌های حیوانی تعریف شده از لحاظ ژنتیکی و روش‌های مدرن کشت بافت به تأخیر افتاد؛ با این وجود، بررسی سرم بعلت در دسترس بودن خون و انجام روش‌های بیوشیمیایی جهت خالص‌سازی میانجی‌های پروتئینی ایمنی هومورال مفید واقع شد. بنابراین اطلاعات مربوط به ایمنی سلولی تا آشکار سازی و درک ایمنی هومورال به تأخیر افتاد.

در یک آزمایش کلیدی در سال ۱۹۴۰، مریل چیس[1] که در مؤسسه راک‌فلر کار می‌کرد، موفق شد تا با انتقال سلول‌های سفید خونی میان خوکچه‌های هندی، ایمنی علیه عامل سل را بین آنها منتقل کند. تا قبل از انجام این مهم، تلاش‌ها جهت تولید و توسعهٔ یک واکسن مؤثر یا درمان با آنتی‌بادی علیه سل با مشکل مواجهه بود. بنابراین، یافته چیس به تلاش جهت شناخت ایمنی سلولی نیروی تازه ای بخشید. با ظهور روش‌های اصلاح شده کشت سلول در سال ۱۹۵۰، **لنفوسیت** به عنوان سلول مسئول هر دو نوع پاسخ ایمنی هومورال و سلولی مشخص شد. بلافاصله پس از آن، آزمایش‌هایی که بر روی جوجه‌ها توسط بروس گلیک[2] در دانشگاه ایالت می‌سی‌سی‌پی صورت گرفت نشان داد که دو نوع لنفوسیت وجود دارد: لنفوسیت‌های T که از تیموس مشتق شده و ایمنی سلولی را میانجی‌گری می‌کنند و لنفوسیت‌های B که از بورسافابریسیوس[3] (یک بخش مشتق از رشد کلوآک در پرندگان) مشتق شده و در ایمنی هومورال دخیل می‌باشند. بحث و مجادله در مورد نقش ایمنی سلولی و هومورال زمانی برطرف شد که پیچیدگی این سیستم‌ها آشکار گشت و مشخص شد که هردوی این سیستم‌ها جهت پاسخ ایمنی ضروری می‌باشند.

یکی از معماهای بزرگی که ایمونولوژیست‌ها در ابتدا با آن مواجه شدند، ویژگی مولکول آنتی‌بادی برای مواد خارجی یا **آنتی‌ژن** (واژه‌ای کلی برای موادی که به یک آنتی‌بادی ویژه

1 - Merrill Chase
2- Bruce Glick
3 - bursa of Fabricius

www.bbooks.ir

اتصال می‌یابند) بود. در حدود سال ۱۹۰۰، جولز بورده[1] در انستیتوپاستور، به واسطه استدلال این که مواد غیرپاتوژن مثل گلبول‌های قرمز خونی سایر گونه‌ها نیز می‌توانند به عنوان آنتی‌ژن تلقی شوند، مفهوم ایمنی را در رابطه با بیماری‌های عفونی توسعه داد. عمل کارل لاندشتاینر[2] و همکارانش نشان داد که تقریباً با تزریق هر ماده شیمیایی آلی به یک جانور، می‌توان تولید آنتی‌بادی‌هایی را تحریک نمود که به طور ویژه به این مادهٔ شیمیایی اتصال می‌یابند. این بررسی‌ها اثبات نمود که آنتی‌بادی‌ها قابلیت واکنش‌پذیری نامحدودی دارند که شامل پاسخ به ترکیباتی است که اخیراً در آزمایشگاه ساخته شده و قبل از آن در طبیعت وجود نداشته‌اند. علاوه بر این مشخص شد که مولکول‌هایی که حتی در کوچکترین جزئیات با یکدیگر تفاوت دارند، توسط واکنش‌پذیری آنتی‌بادی‌های مختلف، تشخیص داده می‌شوند. دو نظریه مهم که مسئول این ویژگی می‌باشند، نظریهٔ گزینشی[3] و نظریه آموزشی[4] می‌باشند.

مفهوم ابتدایی *نظریه گزینشی* به سال ۱۹۰۰ بر می‌گردد که مربوط به پاول ارلیش[5] می‌باشد. ارلیش در یک اقدام برای توصیف منشأ آنی‌بادی‌های سرم، پیشنهاد نمود که سلول‌های خونی، پذیرنده‌های متنوعی را عرضه می‌کنند و او آنها را «پذیره‌های زنجیره جانبی» نامید. این پذیرنده‌ها می‌توانند با عوامل عفونی واکنش داده و آنها را غیر فعال نمایند. با اقتباس از نظریه‌ای که امیل فیشر در سال ۱۸۹۴ جهت توصیف واکنش بین یک آنزیم و سوبسترا به کار برد، ارلیش پیشنهاد کرد که اتصال پذیرنده به یک عامل عفونی، شبیه چفت شدن قفل و کلید است. او همچنین اظهار نمود که میانکنش بین یک عامل

1 -Jules Bordet
2 - Karl Londsteiner
3 - Selective theory
4 -instructional theory
5 -Paul Ehrlich

www.bbooks.ir

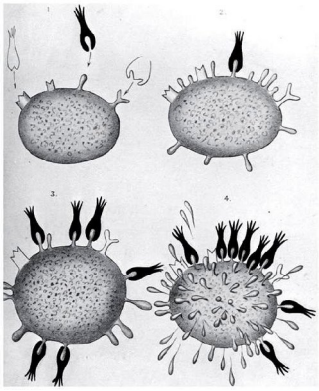
عفونی و پذیرنده غشایی، منجر به رها سازی بیشتر پذیرنده‌ها بـا همـان ویژگـی مـی‌گـردد (شکل ۱-۴).

بر طبق نظریه ارلیش، ویژگی پذیرنده در یک میزبان، پـیش از مجـاورت آن بـا آنتـی‌ژن تعیین می‌شود و آنتی‌ژن، پذیرندهٔ مناسب را گزینش می‌کند. نهایتاً تمامی جنبه های نظریـه ارلیش به درستی اثبات شدند، به جز یک استثنای جزئی که پذیرنـده هـم بـه عنـوان یـک مولکول محلول آنتی‌بادی و هم به عنوان یک پذیرنده متصل به سلول تلقی مـی‌شـود؛ شـکل محلول بیش‌تر از شکل غشایی رها می‌شود.

در دههٔ ۱۹۳۰ و ۱۹۴۰ نظریه گزینشی با *نظریه آموزشی* که در آن، آنتی‌ژن نقش اصـلی را در تعیین ویژگی مولکول آنتی‌بادی بازی می‌کند، مورد چالش قرار گرفـت. طبـق نظریـه آموزشی، یک آنتی‌ژن در مجاورت آنتی‌بادی به عنوان الگویی عمل می‌کند تا آنتی‌بادی بـه طور مناسبی چین‌خوردگی پیدا کند. بنابراین، مولکول آنتی‌بادی آرایش فضای مکملی مطابق با آنتی‌ژن الگو به خود می‌گیرد. این نظریه ابتدا توسط فردریش برینل[1] و فلـیکس‌هـارویتز[2] در سال ۱۹۳۰ بیان شد و مجدداً در سال ۱۹۴۰ توسط لینوس پالینگ[3] در قالب ویژه چـین خوردگی پروتئین تعریف شد. نظریهٔ آموزشی به طور رسمی در سـال ۱۹۶۰ و بـا شـناخت چگونگی ساختار پروتئین، RNA و DNA رد شد.

1 -Fredrich Breinl
2-Felix Haurowitz
3-Linus Pauling

www.bbooks.ir



شکل: ۴-۱: تئوری زنجیره جانبی توسط پاول ارلیش در تولید آنتی بادی. در سلول صلاحیت دار، پذیرنده های جانبی متعددی عرضه می شوند که ویژگی های مختلف آنها را منعکس می سازد.

شکل ۱-۴ معرف نظریه زنجیره جانبی پاول ارلیش جهت توصیف تشکیل آنتی‌بادی می‌باشد. یک سلول، شماری از پذیرنده‌های مختلف یا زنجیره‌هایی جانبی را عرضه می‌کند که هر یک خواص متفاوتی دارند؛ در صورت مواجه شدن این سلول با آنتی‌ژن و قالب شدن با یکی از زنجیره‌های جانبی آن، ساخت پذیرنده آغاز شده و پذیرنده‌ها تولید می‌شوند.

در دهۀ ۱۹۵۰ نظریۀ گزینشی، مجدداً در نتیجه داده‌های تجربی جدید و یا بینش‌هایی که توسط نیلزیرن[۱] و دیوید تالمیج[۲] و مک‌فارلین برفه[۳] مطرح گردید، به یک نظریۀ اصلاح شده تحت عنوان گزینش کلونی[۴] تبدیل شد. بر طبق این نظریه، یک لنفوسیت معین، پذیرنده های غشایی را عرصه می‌کنند که ویژۀ یک آنتی‌ژن می‌باشند. این ویژگی بی‌نظیر پذیرنده پیش از آن که لنفوسیت در معرض آنتی‌ژن قرار گیرد تعیین می‌گردد. اتصال آنتی‌ژن به این پذیرنده ویژه ، سلول را فعال کرده و موجب می‌شود تا تکثیر یابد و کلونی از سلول‌ها را به وجود آورد که ویژگی ایمنی تمام آنها مشابه با سلول می باشد. نظریۀ گزینش کلونال

1-Niels Jerne
2- David Talmadge
3-F.Macfarlane Burnet
4-Clonal Selection

www.bbooks.ir

دچار اصلاحات بیشتر شده است و اکنون به عنوان یک شاخص اساسی ایمونولـوژی مـدرن پذیرفته شده می‌باشد.

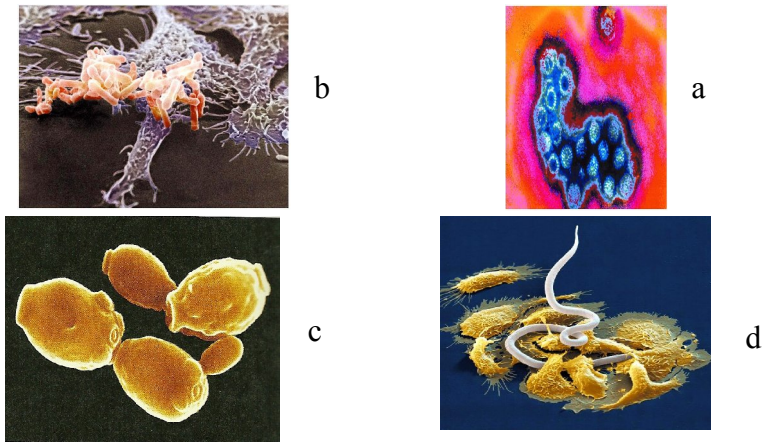
Major groups of human pathogens	Examples of diseases
Viruses	Polio, smallpox, influenza, measles, AIDS
Bacteria	Tuberculosis, tetanus, whooping cough
Fungi	Thrush,
Parasites	Malaria, leishmaniasis

- عفونت و ایمنی

همزمان با پیشرفت در زمینه ایمونولوژی، تحقیقات در میکرب‌شناسی پزشکی ترقی یافتـه و امکان تشخیص عوامل عفونت‌زا و نوع بیماری‌های ایجاد شده توسط آنها فـراهم گردیـده است. ارگانیسم‌های عامل این بیماری‌ها، **پاتوژن** نامیده می‌شوند و چگونگی حملـهٔ آنهـا بـه میزبان، **بیماری‌زایی**[1] خوانده می‌شود. پاتوژن‌های انسانی را می‌توان بـه صـورت شـکل ۵-۱ گروه‌بندی نمود.

1 -Pathogenesis

www.bbooks.ir



شکل ۵-۱: پاتوژن های معروف، عمده ترین میکروارگانیسم های عامل بیماری های انسانی می باشند. (a) ویروس ها: میکروگراف الکترونی گزاره از *روتاویروس* (عامل عمده اسهال کودکان) که مسئول تقریباً یک میلیون مرگ و میر سالانه کودکان در کشورهای در حال توسعه و بستری شدن سالیانه تقریبا ۵۰۰۰۰ نوزاد در ایالات متحده می باشد.(b) باکتری ها: سودوموناس که یک پاتوژن فرصت طلب انسانی بوده و توسط ماکروفاژهای انسان بلعیده می شود. (c) قارچ ها: کاندیدا آلبیکنس موجب برفک یا واژینیت در افرادی که ایمنی آنها سرکوب شده است یا افرادی که در نتیجه مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها فلور باکتریایی طبیعی آنها از بین رفته، می گردد. (d) انگل ها: فرم لاروی فیلاریا که مورد تهاجم ماکروفاژها قرار گرفته است.

یکی از جالب‌ترین موارد، روشی می‌باشد که یک ایمنی کارآمد علیه پاتوژن‌ها از آن بهره می‌گیرد. یک دفاع مؤثر، به شدت وابسته به ماهیت میکروارگانیسم می‌باشد. برای مثال، چون ویروس‌ها جهت تکثیر و ازدیاد خود به سلول‌های پستانداران نیاز دارند، یک راهکار دفاعی کارآمد شامل تشخیص و کشتار سلول‌های آلوده به ویروس قبل از کامل شدن چرخهٔ زندگی ویروس می‌باشد. در مورد ارگانیسم‌هایی که در خارج از سلول میزبان تکثیر می‌شوند، تشخیص سریع این عوامل مهاجم ممکن است توسط آنتی‌بادی‌ها یا مولکول‌های محلول صورت گرفته و بدنبال آن مکانیسم‌های ایمنی مولکول و سلولی پاتوژن ها را از بین ببرند.

www.bbooks.ir

برخی از پاتوژن‌هایی که به وفور در محیط زندگی ما یافت می‌شوند، هیچ‌گونه مشکلی برای سلامتی ما ایجاد نمی‌کنند زیرا ایمنی علیه آنها از پیش و به میزان کافی در بدن وجود دارد. با این وجود، افرادی که در عملکرد ایمنی خود دچار نقص می‌باشند، ممکن است به بیماری‌های ایجاد شده توسط این میکرب‌ها حساس باشند. برای مثال قارچ *کاندیدا آلبیکنس*[1] تقریباً در تمام افراد وجود داشته و برای اغلب آنها هیچ‌گونه مشکلی ایجاد نمی‌کند. با این وجود، در افرادی که سطح ایمنی آنها کاهش یافته، این قارچ می‌تواند موجب راش‌هایی با خارش و سوزش و یک عفونت منتشر در آستر مخاطی حفرات دهان و واژن شود. راش که برفک نامیده می‌شود، ممکن است از اولین علائم اختلال در عملکرد ایمنی باشد. در صورتی که عفونت کنترل نشود، *کاندیدا آلبیکنس* منتشر شده، موجب کاندیدیازیس سیستمیک می‌شود که یک وضعیت تهدید کنندهٔ حیات می‌باشد. مثال دیگر، ویروس هرپس سیمپلکس[2] می‌باشد که معمولاً موجب زخم‌های کوچکی در اطراف لب‌ها یا اندام‌های تناسلی می‌شود. در افرادی که دچار نقص ایمنی هستند، این زخم‌ها گسترش یافته و بخش‌های وسیعی از بدن فرد را در بر می‌گیرند. چنین عفونت هایی که در نتیجه میکروارگانیسم‌های رایج و اغلب در موارد نقص ایمنی مشاهده می‌شوند، ***عفونت‌های فرصت‌طلب*** نام دارند. چندین عفونت فرصت طلب که به ندرت در بیماران ایدزی تشخیص داده شده‌اند، حاکی از وضعیت سیستم ایمنی این بیماران می‌باشد که به شدت تضعیف شده‌است.

در مورد برخی پاتوژن‌هایی که به عنوان عامل این بیماری‌های شدید، شناخته شده‌اند، روش کسب ایمنی اثبات شده و امکان کنترل این بیماری‌ها فراهم گردیده است. برای مثال کزاز[3] که معمولاً فک قفل شده[4] نامیده می‌شود، توسط یک باکتری شایع موجود در خاک

1 -Candida albicans
2-Herpes Simplex virus (HSV)
3-Tetanus
4 -LackJow

www.bbooks.ir

بنام *کلستریدیوم تتانی*[1] بوجود می‌آید که از طریق توکسینی که بـه سیسـتم عصـبی حملـه می‌کند (نوروتوکسین) عمل می‌نماید. در صورت عدم درمان، کزاز در مدت زمـان کوتـاهی منجر به مرگ می‌شود. واکسن مؤثری برای کزاز وجود دارد ولی در صورت واکسینه نبودن در مراحل اولیه این بیماری بالقوه کشنده، می‌توان آنتی‌بادی‌های ضد توکسین را تجویزنمود.

قبل از پیشگیری‌ها و اقدامات درمانی، افرادی که در معرض تلقیح زخم‌ها با مـواد آلـوده مثل ناخن گل‌آلود قرار می‌گرفتند، در خطر عفونت کشندهٔ کزاز بودند. علیرغم موفقیـت در کنترل کزاز، راهکارهای ایمنی جهت کنترل عفونت HIV که منجـر بـه ایـدز مـی‌شـود، بـا شکست روبرو شده است.

سیستم ایمنی بایستی با انواع پاتوژن‌ها مواجه شود وجهت مقابله با تهاجم پـاتوژنی کـه از اولین سد دفاعی پوست و مخاط عبور می‌کند، چندین راهکار را در پیش می‌گیرد. ما خواهیم دید که برخی از این راهکارها در پاسخ به مواقعی که پاتوژن از سدهای دفاعی میزبان عبـور می‌کند، بلافاصله صورت می‌گیرند و سایر پاسخ‌هـای دفـاعی، پـس از وقـوع عفونـت عمـل می‌کنند.

- ایمنی ذاتی و اکتسابی

ایمنی (محافظت در برابر یک بیماری عفونی)، هـم دارای اجـزای بسـیار تخصصـی و هـم دارای اجزای کمتر تخصص یافته می‌باشد. اجزای با تخصص یـافتگی کمتـر (ایمنـی ذاتـی[2]) اولین خط دفاعی علیه عفونت را تشکیل می‌دهد. اکثر اجزای ایمنـی ذاتـی، پـیش از تهـاجم عفونت وجود داشته و یک سری مکانیسم‌های مقاومت در برابر بیماری را به وجود می‌آورند که تنها مختص یک پاتوژن نمی‌باشند و شامل اجزای سلولی و مولکولی بـوده کـه اغلـب در مواجهه با پاتوژن‌ها، برخی مولکول‌هایی این پاتوژن‌ها را شناسایی می‌کنند.

1-Clostridium tetani
2 -innate immunity

www.bbooks.ir

اولین مانعی که پاتوژن بایستی بر آن غلبه کند، نفوذ در سدهای محافظتی میزبان می‌باشد. سدهای قابل مشاهده شامل پوست و غشاهای مخاطی می‌باشند. اسیدیته محتویات معده و عرق بدن سدهای دیگر می‌باشند که شرایط اسیدی جهت ممانعت از رشد ارگانیسم‌ها را فراهم می‌آورند. آنزیم‌هایی چون لیزوزیم که در اشک وجود دارند، در تماس با دیوارهٔ باکتری به آن آسیب می‌رسانند. اهمیت این سدها به هنگام از بین رفتن آنها آشکار می‌گردد. گزش پوست توسط جانوران و یا نیش پشه‌ها، پوست را سوراخ کرده و می‌تواند سبب ابتلا به برخی بیماری‌ها شود. جانورانی که گاز می گیرند ممکن است سبب کزاز یا هاری شوند. حشراتی که بیماری را به میزبان منتقل می‌کنند شامل مالاریا از پشه، طاعون از کک و لایم از کنه می‌باشند. مثالی برجسته از فقدان این سدها، در سوختگی‌ها به چشم می‌خورد. کسانی که پوست محافظتی خود را در محل سوختگی از دست داده‌اند، بایستی جهت جلوگیری از عفونت‌های قارچی و باکتریایی تحت درمان جدی قرار گیرند علاوه بر سدهای اولیهٔ ایمنی ذاتی، بدن دارای سلول‌هایی چون فاگوسیت‌ها می باشد که توسط مچنیکوف شناخته شدند و همچنین ترکیبات ضد میکربی (مولکول‌هایی با توانایی شناسایی الگو) که توسط بدن ساخته شده و براساس آن، عوامل مهاجم را شناسایی و خنثی می‌کنند.

- سلول‌های بیگانه‌خوار، سدی در برابر عفونت می‌باشند.

یک مکانیسم مهم دفاع ذاتی، بلعیدن مواد خارج سلولی توسط عمل فاگوستیوز می‌باشد. فاگوستیوز یکی از انواع **اندوستیوز**[1] می‌باشد. اندوستیوز واژه‌ای عمومی برای بیان برداشت مواد محیطی توسط سلول می‌باشد. در فاگوستیوز غشای پلاسمایی سلول، اطراف یک ذره را فرا می‌گیرد؛ این ذرات ممکن است شامل کل پیکره میکروارگانیسم‌های پاتوژن باشند. فاگوستیوز اغلب توسط سلول‌های تخصص یافته مانند منوسیت و نوتروفیل‌های خونی و ماکروفاژهای بافتی صورت می‌گیرد(فصل ۲). بسیاری از انواع سلول‌ها توانایی اشکال دیگری

1- endocytosis

www.bbooks.ir

از اندوستیوز را نیز دارند، مانند **اندوستیوز با واسطهٔ پذیرنده**[1] (مولکول‌های خارج سلولی پس از اتصال به پذیرنده، وارد سلول می‌شوند) و پینوسیتوز[2] (فرآیندی که سلول‌ها، مایع محیط پیرامون خود را به همراه مولکول‌های موجود در آن جذب و برداشت می‌کنند).

- مولکول‌های محلول نیز در ایمنی ذاتی دخیل می‌باشند.

انواعی از عوامل در ایمنی ذاتی شرکت دارند. از میان این عوامل می‌توان پروتئین لیزوزیم، پروتئین‌های اینترفرون و اجزای سیستم کمپلمان را نام برد (فصل ۷). **لیزوزیم**[3]، آنزیم هیدرولیتیکی بوده که در ترشحات مخاطی و اشک یافت می‌شود و قادر به تخریب لایهٔ پپتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتری‌ها می‌باشد. **اینترفرون‌ها**[4] گروهی از پروتئین‌ها می‌باشند که توسط سلول‌های آلوده به ویروس تولید می‌شوند. از جمله عملکردهای اینترفرون توانایی آن در اتصال به سلول‌های مجاور و القای وضعیت ضد ویروسی می باشد.

همان‌طور که به طور مفصل در فصل ۷ بحث می‌شود، **کمپلمان**[5] گروهی از پروتئین‌های سرمی بوده که در حالت غیرفعال در خون گردش می‌کنند. انواع مکانیسم‌های ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی می‌توانند اشکال غیر فعال پروتئین‌های کمپلمان را به حالت فعال در آورده و حالتی را به وجود می‌آورند که قادر است غشای ارگانیسم پاتوژن را تخریب نماید و یا حتی پاتوژن را منهدم کرده یا پاکسازی آن را تسهیل نماید. موقعیت کمپلمان به گونه‌ای می‌باشد که یک پل ارتباطی بین ایمنی ذاتی و اکتسابی ایجاد می‌کند. اجزای مشخصی از آن می‌توانند به طور مستقیم با پاتوژن‌ها واکنش دهند، در حالی که سایر سیستم‌ها جهت فعال کردن سیستم اجرایی کمپلمان، لازم است تا اتصال آنتی‌بادی با پاتوژن

1-receptor medicated endocytosis
2- Pinocytosis
3-lysozyme
4- Interferons
5-Complement

www.bbooks.ir

از پیش صورت گرفته باشد. واکنش بین مولکول‌های کمپلمان یا اجزای ناشی از شکست آن و پذیرنده‌های مولکولی موجب آغاز فعال‌سازی سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی می‌شود. مطالعات اخیر برروی **کالکتین‌ها**[1] نشان می‌دهند که این پروتئین‌ها قادرند باکتری‌های خاصی را مستقیماً با تخریب غشای لیپیدی آنها از بین ببرند و یا به طور غیر مستقیم با تجمع باکتری‌ها، حساسیت آنها را جهت فاگوستیوز افزایش دهند.

بسیاری از مولکول‌های دخیل در ایمنی ذاتی دارای ویژگی **شناسایی الگو** [2] می‌باشند که از طریق آن، ردهٔ معینی از مولکول‌ها را تشخیص می‌دهند. به دلیل این که انواع مشخصی از مولکول‌ها مختص میکرب‌ها بوده و در هیچ ارگانیسم چند سلولی دیگری یافت نمی‌شوند، توانایی تشخیص سریع و مبارزه با عوامل مهاجم که حاوی چنین مولکوهایی هستند، یکی از جنبه‌های قدرتمند ایمنی ذاتی محسوب می‌شود. مولکول‌های شناسایی کنندهٔ الگو ممکن است محلول باشند مثل لیزوزیم و اجزای کمپلمان و یا ممکن است مانند پذیرنده‌های شبه Toll[3] که در فصل ۳ توضیح داده می‌شوند، پذیرنده‌های مرتبط با غشای سلول باشند.

پاتوژن مهاجم، از سدهای فیزیکی و شیمیایی میزبان عبور کرده و سپس توسط مولکول‌های شناسایی کنندهٔ الگو در میزبان شناسایی شده و توسط فاگوسیت‌ها برداشته می‌شود و در نتیجه سیستم با یک پاسخ التهابی به آن پاسخ می‌دهد (فصل ۱۲-۱۳). این پاسخ، موجب افزایش تراکم عناصر ایمنی ذاتی در محل التهاب شده و موجب تنظیم و هدایت یک پاسخ ایمنی ویژه علیه پاتوژن مهاجم می‌گردد. پاسخی که توسط التهاب فراخوانده می‌شود، پاسخ ایمنی اکتسابی می‌باشد.

در مقایسه با فعالیت وسیع و گسترده سیستم ایمنی ذاتی که به طور یکنواخت در تمام اعضای یک گونه صورت می‌گیرد، اجزای اختصاصی (ایمنی اکتسابی) تا زمانی که آنتی‌ژن مربوط به ارگانیسم شناسایی نشود، نقشی ایفا نمی‌کنند. پاسخ‌های ایمنی اکتسابی ،

1- Collectins
2-Pattern recognition
3-Toll-like Receptors (TLRs)

www.bbooks.ir

واکنش‌های باویژگی بسیار بالا و همچنین دارای خصوصیت برجسته خاطره[1] می‌باشند. عموماً پاسخ ایمنی اکتسابی علیه آنتی‌ژن، پنج تا شش روز پس از اولین مواجهه با آنتی‌ژن به وجود می‌آید. مواجهۀ بعدی با آنتی‌ژن مشابه، موجب یک پاسخ خاطره‌ای می‌شود که نسبت به واکنش اولیه سریع‌تر رخ داده، قوی‌تر بوده و اغلب در خنثی سازی و پاکسازی پاتوژن، کارآمدتر می‌باشد. عوامل عمدۀ ایمنی اکتسابی، لنفوسیت‌ها و آنتی‌بادی‌های آنها می‌باشند. جدول ۳-۱ ایمنی اکتسابی و ذاتی را با یکدیگر مقایسه می‌کند.

TABLE 1-3 Comparison of innate and adaptive immunity

	Innate	Adaptive
Response time	Hours	Days
Specificity	Limited and fixed	Highly diverse; improves during the course of immune response
Response to repeat infection	Identical to primary response	Much more rapid than primary response
Major components	Barriers (e.g., skin); phagocytes; pattern recognition molecules	Lymphocytes; antigen-specific receptors; antibodies

به دلیل این که پاسخ‌های ایمنی اکتسابی گاهی اوقات نیاز به آماده شدن دارند، ایمنی ذاتی در طول دوره اولیه و بلافاصله پس از مواجهه میزبان با پاتوژن، خط اولیه دفاعی را فراهم می‌آورد. به صورت کلی،بیشتر میکروارگانیسم‌های مواجه شده با افراد سالم، پس از چند روز توسط مکانیسم‌های دفاعی سیستم ایمنی ذاتی و قبل از فعال شدن سیستم ایمنی اکتسابی، از بین می‌روند.

- همکاری ایمنی ذاتی و اکتسابی، پاسخ‌دهی ایمنی را افزایش می‌دهد

این که سیستم‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی مستقل از یکدیگر عمل نمی‌کنند، بر اهمیت آنها افزوده است. این دو به عنوان یک سیستم مشارکتی عمل کرده و موجب ایجاد پاسخ پیچیده‌ای می‌شوند که نسبت به پاسخ‌هایی که توسط هر کدام از آنها به تنهایی ایجاد

1-memory

www.bbooks.ir

می‌شود، کارآمدتر می‌باشد. اجزای سلولی و مولکولی ایمنی نقش مهمی در هر دو نوع ایمنی ایفا می‌کنند.

یک مثال از این همکاری، در مواجهۀ میکرب‌ها و ماکروفاژها مشاهده می‌شود. میانکنش پذیرنده‌های موجود بر سطح ماکروفاژها و اجزای میکربی موجب تولید پروتئین‌های محلولی می‌شود که پاسخ‌های ایمنی اختصاصی را تحریک و رهبری می‌کنند و موجب تسهیل در سرعت عملکرد سیستم ایمنی اکتسابی در از بین بردن پاتوژن می‌شوند. این پروتئین‌های محلول، مولکول‌های شبیه فاکتور رشد بوده که با نام عمومی **سایتوکاین‌ها**[1] شناخته می‌شوند. سایتوکاین‌ها با پذیرنده‌های موجود بر روی انواع سلول‌ها واکنش داده و پیام‌هایی به وجود می‌آورند که سبب عملکردهای سلولی مانند تولید عوامل جدید و یا تمایز انواع سلول‌های جدید می‌شوند. ردۀ محدودی از سایتوکاین‌ها فعالیت کموتاکتیک داشته و سلول‌های خاصی را به محل ترشح خود فرا می‌خوانند . این سایتوکاین‌ها کموکاین[2] نامیده می‌شوند.

به این نوع ارتباط داخل سلولی که توسط سایتوکاین‌ها میانجی‌گری می‌شود، پیام‌رسانی[3] گفته می‌شود. پیام‌رسانی شامل واکنش بین یک مولکول محلول (بیگانه) و یک مولکول غشایی (پذیرنده) و یا واکنش میان مولکول‌های غشایی د, نوع سلول مختلف می باشد. میانکنش بین پذیرنده و لیگاند منجر به سازش متابولیکی در سلول‌ها می‌شود. شمار قابل توجهی از مسیرهای انتقال پیام وجود دارد که تمام آنها مراحل مشابهی دارند.

- *انتقال پیام با اتصال مولکول پیام‌رسان به پذیرنده خود آغاز می‌شود.* پذیرنده‌ها ممکن است در داخل یا خارج سلول باشند. مولکول های پیام‌رسانی که نمی‌توانند از غشای سلولی عبور کنند، به پذیرنده‌های موجود در سطح سلول متصل می‌شوند. این گروه شامل مولکول‌های پیام رسان محلول در آب و لیگاندهای متصل به غشأ مثل مجموعۀ

1-Cytokines
2-Chemokine
3-Signaling

www.bbooks.ir

پتپید – MHC می‌باشند. مولکول‌های پیام رسان آبگریز مثل استروئیدها می‌توانند از غشأی سلولی عبور کرده و به پذیرنده‌های داخل سلولی اتصال یابند.

- *بسیاری از مسیرهای انتقال پیام سبب القای تجمع اجزای مسیر می‌شوند.* مولکول‌هایی که به عنوان پروتئین‌های تطبیق‌گر[1] شناخته می‌شوند، به صورت اختصاصی و همزمان به دو یا چند مولکول دخیل در مسیرهای پیام‌رسانی مختلف اتصال یافته و آنها را به مجاورت یکدیگر می‌آورند تا فعالیت ترکیبی آنها سریع‌تر صورت گیرد.

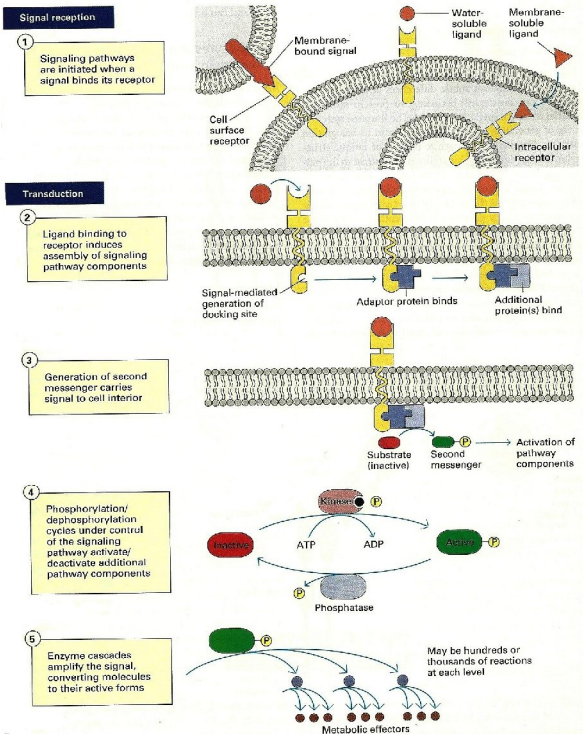
دریافت پیام، اغلب منجربه تولید پیامبر ثانویه شده و باعث القای تغییرات متابولیکی می‌گردد، که مثال این مولکول‌ها، نوکلئوتیدهای حلقوی (cGMP,cAMP)، یون کلیسم (Ca^{2+}) و مشتقات فسفولیپیدی غشأ مثل دی‌آسیل گلیسرول[2] (DAG) و اینوزیتول تری فسفات[3] (IP_3) می‌باشند.

- *پروتئین کنیازها و پروتئین فسفاتازها فعال یا مهار می‌شوند.* کنیازها فسفریلاسیون زیر واحدهای هدف (تیروزین، سرین وترئونین) پروتئین‌های کلیدی انتقال پیام را کاتالیز می‌کنند. فسفاتازها، واکنش‌های دفسفریلاسیون را کاتالیز کرده و عملکرد آنها بر عکس کنیازها می‌باشد. این آنزیم‌ها در بسیاری از مسیرهای انتقال پیام ایمنی نقش حیاتی ایفا می‌کنند.
- *پیام‌ها توسط آبشارهای آنزیمی تقویت می‌شوند.* یک آنزیم در مسیر انتقال پیام به محض فعالیت، بسیاری از واکنش‌ها را کاتالیز می‌کند. این آنزیم می‌تواند مولکوهای زیادی با ترکیبات جدید در این مسیر به وجود آورده و یا نسخه‌های بیش‌تری از آنزیم بعدی را به طور متوالی فعال کند. این امر، پیام را در هر مرحله به شدت تقویت نموده و امکان تنظیم و تشدید یک پیام را فراهم می‌آورد.

این فرآیند به طور شماتیک در شکل ۶-۱ ترسیم شده است.

1-adaptor proteins
2- Diacylglycerol
3-inositol triphosphate

www.bbooks.ir



شکل مروری ۶-۱: شمای کلی از انتقال پیام

فعالیت در نتیجهٔ انتقال پیام موجب تولید و یا ترشح پروتئین‌های خاص، تمایز و شروع یا توقف یک عملکرد ویژه می‌شوند. برای مثال، ماکروفاژهای تحریک شده، سایتوکاین‌هایی را ترشح می‌کنند که می‌توانند پاسخ‌های ایمنی اکتسابی لنفوسیت‌ها را علیه پاتوژن خاصی هدایت کنند.

سیستم ایمنی اکتسابی، پیام‌ها و ترکیباتی را به وجود می‌آورد که کارآیی پاسخ‌های ذاتی را افزایش می‌دهند. برخی سلول‌های T هنگامی که به طور مناسبی با آنتی‌ژن‌های عرضه شده مواجه می‌شوند، سایتوکاین‌هایی را تولید و ترشح می‌کنند که توانایی ماکروفاژها جهت کشتار میکرب‌های بلیعده شده را افزایش می‌دهند. همچنین آنتی‌بادی‌هایی که علیه یک پاتوژن مهاجم تولید می‌شوند، به پاتوژن متصل شده و آن را به عنوان هدفی جهت تهاجم

www.bbooks.ir

ماکروفاژها و یا پروتئین‌های کمپلمان، نشاندار کرده و به عنوان تقویت کننده‌های تهاجم به کار گرفته می‌شوند.

یک تفاوت عمده بین ایمنی ذاتی و اکتسابی، سرعت پاسخ ایمنی ذاتی است که مدیون وجود از پیش تشکیل شده آن می‌باشد؛ اما گنجینه اجزای پاسخ دهندهٔآن محدود می‌باشد. ایمنی اکتسابی، سرعت پایین فعالیت خود در آغاز تهاجم را، با توانایی تشخیص گستردهٔ مواد بیگانه و همچنین توانایی بهبود این تشخیص درحین پاسخ به پاتوژن، جبران می‌کند؛ در صورتی که توانایی ایمنی ذاتی ثابت باقی می‌ماند.

- ایمنی اکتسابی بسیار اختصاصی می‌باشد.

ایمنی اکتسابی قادر به شناسایی و کشتن انتخابی میکروارگانیسم‌ها و مولکول‌های بیگانه می‌باشد. برخلاف پاسخ‌های ایمنی ذاتی، پاسخ‌های ایمنی اکتسابی در تمام اعضای یک گونه یکسان نبوده و واکنش‌ها، ویژه آنتی‌ژن می‌باشند. ایمنی اکتسابی چهار خصوصیت بارز دارد:

- ویژگی آنتی‌ژن[1]
- تنوع[2]
- خاطره ایمنی[3]
- تشخیص خودی از غیر خودی[4]

ویژگی آنتی‌ژنی سیستم ایمنی اکتسابی، این امکان را فراهم می‌آورد تا تفاوت‌های ناچیز بین آنتی‌ژن‌ها را از یکدیگر افتراق دهد. آنتی‌بادی‌ها قادرند دو مولکول پروتئین را که تنها در یک اسیدآمینه با هم اختلاف دارند، از یکدیگر متمایز سازند. سیستم ایمنی قادر به تولید *تنوع* زیادی از پذیرنده‌ها می‌باشد که این ویژگی امکان تشخیص میلیاردها ساختار موجود

1-antigenic specificity
2- diversity
3-immunologic memory
4-self-nonself recognition

www.bbooks.ir

در آنتی‌ژن‌های بیگانه را فراهم می‌آورد. این توانایی با توانایی مولکول‌های شناسایی کننده الگو در سیستم ذاتی متفاوت می‌باشد. سیستم ایمنی اکتسابی می‌تواند یک نوع ارگانیسم را تشخیص داده و حتی بین ارگانیسم‌هایی که تغییرات ژنتیکی اندکی در آنها رخ داده است تمایز قائل شود.

زمانی که سیستم ایمنی اکتسابی یک آنتی‌ژن را شناسایی نموده و به آن پاسخ می‌دهد، *خاطرهٔ ایمنی* شکل می‌گیرد. خاطرهٔ ایمنی در واقع روندی است که در نتیجه مواجههٔ مجدد با همان آنتی‌ژن، موجب تحریک قوی‌تر فعال سازی ایمنی می‌شود. به دلیل این ویژگی، سیستم ایمنی قادر است در برابر بسیاری از عوامل عفونت‌زا ایمنی پایدارتری اعمال نماید و در نهایت این که، سیستم ایمنی به طور معمول تنها به آنتی‌ژن‌های بیگانه پاسخ می‌دهد، که این امر حاکی از آن است که قادر به *تشخیص خودی از غیرخودی* می‌باشد.

- لنفوسیت‌ها و سلول‌های عرضه کنندهٔ آنتی‌ژن با سیستم ایمنی اکتسابی همکاری می‌کنند.

یک پاسخ ایمنی مؤثر شامل دو گروه از سلول‌ها می‌باشد: *لنفوسیت‌ها* و *سلول‌های عرضه کنندهٔ آنتی‌ژن*[1]. لنفوسیت‌ها یکی از انواع گلبول‌های سفید خونی می‌باشند که توسط فرآیند خونسازی در مغز استخوان تولید می‌شوند (فصل ۲). لنفوسیت‌ها مغز استخوان را ترک کرده، وارد گردش خون و سیستم لنفاوی می‌شوند و در اندام‌های لنفاوی مختلف مستقر می‌شوند. به علت این که لنفوسیت‌ها پذیرنده‌های سطحی جهت اتصال با آنتی‌ژن را تولید کرده و در سطح خود عرضه می‌دارند، این سلول‌ها دارای خصوصیت برجستهٔ ایمنی مثل ویژگی، تنوع، خاطره و تشخیص خودی از غیر خودی می باشند. دو جمعیت عمده

1-antigen presenting cells (APCs)

www.bbooks.ir

لنفوسیت‌ها شامل لنفوسیت‌های B (سلول‌های B)[1] و لنفوسیت‌های T(سلول‌های T)[2] به طور خلاصه در اینجا توصیف شده و در فصول بعد به تفصیل شرح داده می‌شوند.

- لنفوسیت‌های B

لنفوسیت‌های B در مغز استخوان بالغ شده و در حین رهاسازی هر کدام، یک پذیرنده ویژه آنتی‌ژن بر روی غشای خود عرضه می‌کنند (شکل ۷-۱). این پذیرنده‌های ویژه آنتی‌ژن یا **گیرنده‌های سلول** B، مولکول آنتی‌بادی غشایی هستند (شکل aو ۷b-۱) .

شکل ۷-۱: سلول B. (a) سطح سلول های B حدوداً دارای $۱۰^{۵}$ مولکول آنتی بادی غشایی می باشد. تمام مولکول های آنتی بادی موجود بر روی یک قارچ ها: کاندیدا آلبیکنس که معمولا موجب برفک یا واژینیت در افراد با ایمنی تضعیف شده یا افرادی که در اثر مصرف بی سلول B ویژگی آنتی ژنی مشترکی داشته و می توانند مستقیما با آنتی ژن واکنش دهند. (b) آنتی بادی‌های غشایی و (ترشحی) دارای زنجیره های سنگین و سبک می باشند.

آنتی‌بادی‌ها گلیکوپروتئین هایی هستند که از دوپلی پپتید یکسان که زنجیره سنگین نامیده می‌شوند و دو پلی پپتید یکسان کوچک‌تر که زنجیرهٔ سبک نامیده می‌شوند، تشکیل شده‌اند. زنجیره‌های سنگین توسط پیوندهای دی‌سولفید به یکدیگر متصل شده و جفت زنجیره‌ی سبک- سنگین توسط پیوندهای دی‌سولفید دیگری با یکدیگر ارتباط دارند. انتهای آمینی جفت‌زنجیره‌های سنگین و سبک جایگاه اتصال به آنتی‌ژن را بوجود می‌آورند. هنگامی که یک سلول B **دست نخورده**[3] (سلولی که قبلاً با آنتی‌ژن مواجه نشده) برای اولین بار با

1-B lymphocytes (B-cells)
2-T lymphocytes (T-cells)
3-naïve Bcell

www.bbooks.ir

آنتی‌ژن مواجه می‌شود، در صورت مکمل بودن آنتی‌ژن با آنتی‌بادی غشایی، این دو به یکدیگر اتصال یافته و سلول به سرعت شروع به تقسیم می کند. نوادگان این سلول به سلول‌های *Bخاطره‌ای* و *سلول‌های B*اجرایی به نام *پلاسماسل*[1] تمایز می‌یابند. سلول‌های B خاطره‌ای نسبت به سلول‌های دست نخورده عمر طولانی‌تری داشته و همانند سلول‌های B والد، آنتی‌بادی‌های غشایی مشابهی را عرضه می‌کنند. پلاسماسل‌ها قادرند آنتی‌بادی‌های ترشحی تولید کنند (شکل b ۷-۱) و فاقد آنتی‌بادی‌های غشایی می‌باشند و یا تعداد کمی آنتی‌بادی غشایی دارند. اگر چه پلاسماسل‌ها تنها چند روز زنده می‌مانند. اما آنها در طول حیات خود مقادیر قابل توجهی آنتی‌بادی ترشح می‌کنند. یک پلاسماسل می‌تواند در هر ثانیه صدها تا هزاران مولکول آنتی‌بادی تولید کند. آنتی‌بادی‌های ترشحی ، عمده‌ترین مولکول‌های اجرایی ایمنی هومورال می‌باشند.

- لنفوسیت‌های T

لنفوسیت‌های T از مغز استخوان مشتق می‌شوند. برخلاف سلول‌های B که در مغز استخوان بالغ می‌شوند، سلول‌های T به غدهٔ تیموس مهاجرت کرده و در آنجا بالغ می‌شوند. سلول‌های T بالغ، مولکول های ویژه آنتی‌ژن به نام پذیرنده سلول T[2](TCR) را بر روی غشای خود عرضه می‌کنند. دو زیر جمعیت شناخته شده از سلول‌های Tوجود دارند: **سلول‌های T کمک کننده (T_H)**[3] و **سلول‌های T سیتوتوکسیک (T_C)**[4] . سلول‌های T_H و T_C(شکل b و a ۸-۱) به واسطهٔ وجود گلیکوپروتئین‌های غشایی CD_4 و CD_8خود، از یکدیگرمتمایز می‌شوند. سلول‌های T که CD_4را عرضه می‌کنند، عموماً به عنوان سلول‌های

1-plasma cell
2-T cell Receptor
3-T helper
4-T cytotoxic

www.bbooks.ir

T کمک کننده و آنهایی که CD_8را عرضه می‌کنند به عنوان سلول‌های T سایتوتوکسیک فعالیت دارند (فصل ۲).

شکل ۸-۱: سلول های T دارای CD4 به عنوان سلول های یاریگر (a) و سلول های $CD8^+$ به عنوان سلول‌های سایتوتوکسیک (b) عمل می کنند. (c) سلول های $CD4^+$ تنها آنتی ژن هایی را شناسایی می کنند که به مولکول های MHC-II سطح APCها متصل می شوند. سلول های $CD8^+$ آنتی ژن را همراه مولکول‌های MHC-I شناسایی می کنند.

اخیراً نوع سومی از سلول‌های Tشناسایی شده که **سلول T تنظیمی** [1](Treg) نامیده می‌شود. این سلول‌ها CD_4 را بر روی خود عرضه می‌کنند اما ممکن است به واسطهٔ شاخص‌های سطحی سلولی که در ارتباط با مرحلهٔ فعال‌سازی آن می‌باشد، از سلول‌های T_Hو T_C تفکیک شود.

برخلاف آنتی‌بادی‌های غشایی سلول‌های B که آنتی‌ژن‌های آزاد را تشخیص می‌دهند، بیشتر پذیرنده‌های سلول T، تنها آنتی‌ژن را همراه با پروتئین‌های غشایی با نام مولکول‌های **کمپلکس اصلی سازگاری بافتی** [2] (MHC) شناسایی می‌کنند.

مولکول‌های MHC گلیکوپروتئین‌های پلی‌مورف می‌باشند که بر روی غشای سلولی یافت می‌شوند (فصل ۸). دو نوع عمده از مولکول‌های MHC وجوددارد. مولکول‌های MHCکلاس یک (MHC-I) که تقریباً بر روی تمام سلول‌های هسته‌دار گونه‌های مهره‌داران یافت می‌شوند و مولکول‌های MHC کلاس دو (MHC-II) که تنها بر روی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن (APCs) بارز می‌شوند (شکل ۸c-۱). زمانی که یک سلول T دست نخورده

1-T regulatory
2-Major Histocompatibility Complex

www.bbooks.ir

با آنتی‌ژن متصل به مولکول MHC سطح یک سلول مواجه می‌شود، سلول‌های T تکثیر یافته و به سلول‌های T خاطره‌ای و انواعی از سلول‌های T اجرایی تمایز می‌یابند.

پس از این که سلول T_H،کمپلکس آنتی‌ژن – MHC-II را شناسایی کرد و بـا آن واکـنش داد، فعال شده و سایتوکاین ترشح می‌کنـد. سـایتوکاین‌هـای ترشـح شـده در فعـال سـازی سلول‌های B، سلول‌های Tc ، ماکروفاژها و سایر سلول‌های درگیر در پاسخ‌های ایمنـی نقـش مهمی بر عهده دارند. تفاوت در انواع سایتوکاین‌هایی که توسط سـلول‌هـای T_Hفعـال شـده تولید می‌شود، منجر به الگوهای مختلف پاسخ ایمنی می‌شود. یک پاسخ ممکن اسـت سـبب تحریک تغییر در سلول‌های Tc جهت تولید لنفوسیت‌های T سایتوتوکسـیک (CTLs) شـود که دارای فعالیت سلول کشی می‌باشند. CTLها عملکرد حیاتی در پایش سلول‌هـای بـدن و حذف سلول‌های آلوده به ویروس، سلول‌های توموری و سلول‌های بافت پیوندی بیگانه دارند.

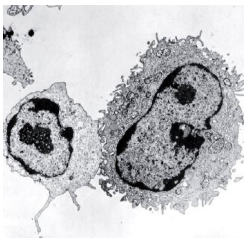
- سلول‌های عرضه کنندهٔ آنتی‌ژن با سلول‌های T میانکنش می‌دهند.

فعال‌سازی بازوهای هومورال و سلولی سیستم ایمنی نیازمند سایتوکاین‌های است که توسط T_H تولید می‌شوند، فعال‌سازی خود به خودی سلول‌های T_H باید به طور دقیقی تنظیم شـود، زیرا یک پاسخ مربوط به سلول T که علیه اجزای خودی هدایت شود، ممکن اسـت عواقـب کشندهٔ **خود ایمنی**[1] را در برداشته باشد. یکی از سیستم‌های محافظتی علیه فعال‌سازی غیـر منظم سلول‌های T_H، این است که پذیرنده‌های آنتی‌ژن سلول‌های T_H، تنها قادر به تشـخیص آنتی‌ژن در کنار مولکول‌های MHC-II بر سطح سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن مـی‌باشـند. این سلول‌های تخصص یافته که شامل ماکروفاژها، لنفوسیت‌های B و سلول‌هـای دنـدریتیک می‌باشند، به واسطه دو ویژگی متمایز شناخته مـی‌شـوند: ۱- آنهـا مولکـول‌هـای MHC-II غشایی را عرضه می‌کنند. ۲- قادرند سایتوکاین‌هایی تولید کننـد کـه موجـب فعـال‌سـازی سلول‌های T_H می‌شوند.

1-autoimmune

www.bbooks.ir

سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن، ابتدا توسط اندوسیتوز یا بیگانه‌خواری، آنتی‌ژن را به داخل خود می‌کشند، سپس بخشی از آنتی‌ژن را همراه MHC-II بر روی غشای خود عرضه می‌دارند. سلول T_H با این مجموعه میانکنش داده (شکل ۹-۱) سپس سلول عرضه کننده آنتی‌ژن پیام‌های دیگری تولید می‌کند که منجر به فعال‌سازی سلول‌های T_H می‌شود.

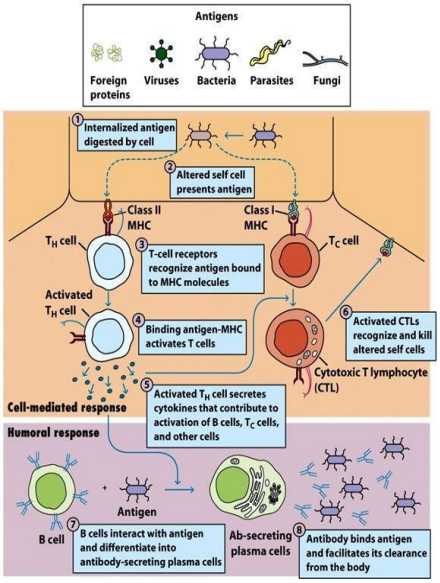


شکل ۹-۱: میکروگراف الکترونی از یک ماکروفاژ عرضه کننده آنتی ژن (سمت راست) همراه با یک لنفوسیت.

- پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال، اعمال اجرایی متفاوتی نشان می‌دهند

چنان که پیش‌تر بیان شد، پاسخ‌های ایمنی را می‌توان به دو نوع پاسخ سلولی و هومورال تقسیم‌بندی نمود. ایمنی هومورال به ایمنی گفته می‌شود که بتوان به واسطهٔ تزریق آنتی‌بادی‌های سرم یک فرد ایمن، آن را به یک فرد غیر ایمن انتقال داد. در مقابل، ایمنی سلولی را تنها با تزریق سلول‌های T یک فرد ایمن می‌توان انتقال داد. بازوی هومورال سیستم ایمنی شامل میانکنش سلول‌های B با آنتی‌ژن بوده که تکثیر و تمایز این سلول‌ها به پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی را موجب می‌شود (شکل ۱۰-۱).

www.bbooks.ir



شکل مروری ۱۰-۱: بازوهای هومورال و سلولی سیستم ایمنی

آنتی‌بادی به عنوان جزء اجرایی پاسخ هومورال، به آنتی‌ژن متصل شده و سبب تسهیل حذف آن می‌شود. آنتی‌ژن پوشیده شده با آنتی‌بادی به چند طریق از بین می‌رود. برای مثال، آنتی‌بادی می‌تواند بین چند آنتی‌ژن اتصال متقاطع ایجاد کند و توده‌ای تشکیل دهد که آسان‌تر توسط سلول‌های بیگانه خوار بلعیده می‌شود. همچنین آنتی‌بادی با اتصال به آنتی‌ژن موجود بر روی میکروارگانیسم‌ها می‌تواند سیستم کمپلمان را فعال کرده و سبب انهدام ارگانیسم‌های بیگانه شود. علاوه براین ، آنتی‌بادی قادر است توکسین‌ها یا ذرات ویروسی را با پوشاندن آنها خنثی کند و به این ترتیب از اتصال آنها به سلول‌های میزبان جلوگیری نماید.

سلول‌های T اجرایی[1] که در پاسخ به آنتی‌ژن تولید می‌شوند، مسئول ایمنی سلولی می‌باشند (شکل ۱۰-۱) .

1-effector Tcells

www.bbooks.ir

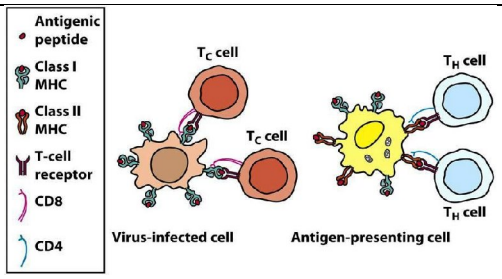
هر دو سلول‌ها T_H و Tc فعال شده، به عنوان سلول‌های اجرایی در واکنش‌های ایمنی سلولی به کار گرفته می‌شوند. سایتوکاین‌های ترشح شده از سلول‌های T_H می‌توانند انواع سلول‌های بیگانه‌خوار را فعال کنند و آنها را قادر می‌سازند تا به طور کارآمدتری میکروارگانیسم‌ها را فاگوستیوز کرده و از بین ببرند. این نوع پاسخ ایمنی سلولی به ویژه در پاکسازی میزبان از باکتری‌ها و پروتوزوئرهای موجود در سلول‌های آلوده میزبان حائز اهمیت می‌باشد. CTLهایی که در واکنش‌های ایمنی سلولی شرکت می‌کنند موجب کشتار سلول‌های تغییر یافته خودی (سلول‌های آلوده به ویروس و سلول‌های توموری) می‌شوند.

- مولکول‌های کمپلکس اصلی سازگاری بافتی، به پپتیدهای آنتی‌ژن متصل می‌شوند

کمپلکس اصلی سازگاری بافتی یک مجموعهٔ ژنتیکی بزرگ با چندین جایگاه می‌باشد. این گروه از ژن‌ها در ابتدا به عنوان مانعی بزرگ برای پیوند بافت مورد توجه قرار گرفتند. ژن‌های MHC نا همسان موجب رد پیوند می‌شوند و از این رو سازگاری بافتی نام گرفته‌اند. جایگاه‌های موجود در MHC، دو رده از گلیکوپروتئین‌های غشایی به نام های MHC-Iو MHC-II راکد می‌کنند. معمولاً سلول‌های T_H آنتی‌ژن‌های متصل به مولکول‌های کلاس II را شناسایی می‌کنند، در حالی که سلول‌های Tc عموماً آنتی‌ژن‌های متصل به مولکول‌های کلاس I را تشخیص می‌هند (شکل ۱۱-۱). مولکول‌های MHC به عنوان مولکول‌های شناساگر آنتی‌ژن عمل می‌کنند اما آنها همانند پذیرنده‌های سلول‌های T و آنتی‌بادی‌ها نبوده و فاقد ویژگی شناسایی دقیق آنتی‌ژن می‌باشند.

بنابراین، هر مولکول MHC می‌تواند به طیفی از پپتیدهای آنتی‌ژنی ناشی از تخریب مولکول پروتئین متصل شود. در هر دو کلاس مولکول‌های MHC شیاری وجود دارد که جایگاه پپتید آنتی‌ژن می‌باشد که به لنفوسیت‌های T عرضه می‌گردد(شکل ۱۱-۱).

www.bbooks.ir



شکل ۱۱-۱: نقش مولکول های MHC در شناسایی آنتی ژن ها توسط سلول های T. مولکول های MHC-I تقریباً بر روی تمام سلول های هسته دار عرضه می شوند. مولکول های MHC-II تنها بر روی سلول های عرضه کننده آنتی ژن بیان می گردند.

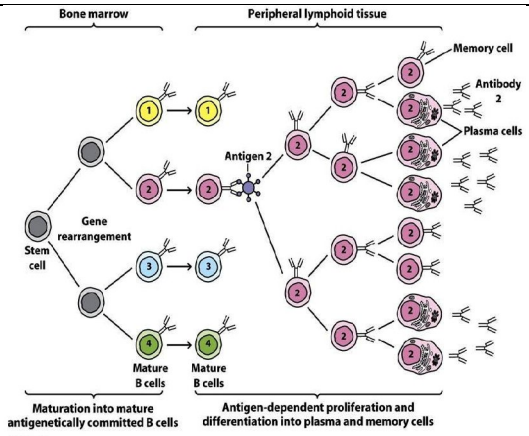
- گزینش آنتی‌ژنی لنفوسیت‌ها موجب گسترش کلونی می‌گردد

جانوران بالغ صلاحیت دار ایمنی[1]، حاوی کلون‌های بسیاری از لنفوسیت‌های B و T ویژه آنتی‌ژن می‌باشند. ویژگی آنتی‌ژنی هر یک از این کلون‌ها توسط ویژگی پذیرنده متصل شونده به آنتی‌ژن موجود بر روی غشای لنفوسیت‌های کلون، تعیین می‌شود. چنانچه قبلاً اشاره شد، ویژگی هر یک از لنفوسیت‌های B و T، قبل از مواجهه آنتی‌ژنی طی بلوغ در تیموس یا مغز استخوان تعیین می‌شود.

نقش آنتی‌ژن زمانی با اهمیت می‌شود که با لنفوسیت‌های بالغ میانکنش داده و در نتیجه موجب گسترش جمعیت سلولی ویژه آنتی‌ژن گردد. در این روند **گزینش کلونی**، یک آنتی‌ژن به یک سلول B یا T خاص اتصال یافته و موجب تحریک تقسیم‌های مکرر در آن می‌گردد تا کلونی از سلول‌ها با ویژگی آنتی‌ژنی مشابه با سلول والد ایجاد شود (شکل ۱۲-۱).

1-immunocompetent

www.bbooks.ir



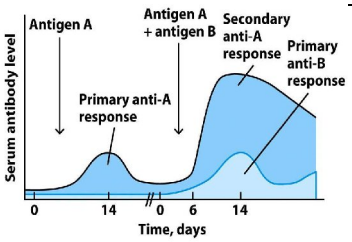
شکل ۱۲-۱: بلوغ و گزینش کلنی لنفوسیت های B.

گزینش کلونی زمینه‌ای جهت درک ویژگی و شناسایی خودی از غیر خودی به وجود می‌آورد که از خصوصیات ایمنی اکتسابی می‌باشد. ویژگی، به این معنی است که تنها لنفوسیت‌هایی که پذیرنده‌های آنتی‌ژنی آنها مختص یک آنتی‌ژن معین باشند. گسترش یافته و به منظور ایجاد پاسخ ایمنی ، بسیج می‌شوند. تمایز خودی از غیر خودی، با حذف لنفوسیت‌های خود واکنشگر[۱] یا سرکوب عملکرد این سلول‌ها صورت می‌پذیرد.

خاطره ایمنی از دیگر پیامدهای گزینش کلونی است. در طی گزینش کلونی، شماری از لنفوسیت‌های اختصاصی آنتی‌ژن به شدت تکثیر می‌یابند. با این حال بسیاری از این لنفوسیت‌ها که به عنوان سلول‌های خاطره‌ای تلقی می‌شوند، نسبت به لنفوسیت‌های دست نخورده که از آنها به وجود می‌آیند، طول عمر بیشتری دارند.

۱-auto reactive lymphocytes

www.bbooks.ir



شکل ۱۳-۱: تفاوت های پاسخ اولیه و ثانویه به آنتی ژن تزریقی (پاسخ های هومورال) منعکس کننده پدیده ی خاطره ایمنی می باشد. زمانی که آنتی ژن به یک حیوان تزریق می شود، پاسخ آنتی بادی سرمی اولیه اندکی ایجاد شده و مدت زمان کمی دوام دارد که در روز ۱۷-۱۰ به حداکثر خود می رسد. ایمونیزاسیون ثانویه با همان آنتی ژن موجب پاسخ ثانویه قوی تری بوده که در روز ۷-۲ به حداکثر خود می رسد.

در بخش بازوی هومورال سیستم ایمنی، آنتی‌ژن موجب تحریک تکثیر کلونی لنفوسیت‌های B به پلاسماسل‌های ترشح کنندهٔ آنتی‌بادی و سلول‌های B خاطره‌ای می‌شود. همان‌گونه که در شکل ۱۳-۱ مشاهده می‌شود، در **پاسخ اولیه**[1] (در حدود پنج تا هفت روز قبل از این که سطح آنتی‌بادی شروع به افزایش کند) یک فاز تأخیری وجود دارد. این فاز تأخیری، مدت زمان لازم جهت فعال‌سازی سلول‌های Bدست نخورده T_H توسط آنتی‌ژن و همچنین تکثیر و تمایز سلول‌های B فعال شده به پلاسماسل می‌باشد. حداکثر میزان آنتی‌بادی تولید شده در پاسخ اولیه، در حدود روز چهاردهم بوده و سپس با از بین رفتن پلاسماسل‌ها کاهش می‌یابد: در **پاسخ ثانویه**[2]، فاز تأخیری بسیار کوتاه می‌باشد (تنها ۱ تا ۲ روز)، میزان آنتی‌بادی بسیار بالاتر بوده و به مدت طولانی‌تری نیز باقی می‌ماند . پاسخ ثانویه معرف فعالیت جمعیت گسترش یافته کلونال سلول‌های B خاطره‌ای می‌باشد.

این سلول‌های خاطره‌ای نسبت به سلول‌های B دست نخورده، سریع‌تر به آنتی‌ژن پاسخ می‌دهند؛ علاوه براین، به دلیل این که تعداد سلول‌های خاطره‌ای بسیار بیشتر از سلول‌های نابالغ در پاسخ اولیه می‌باشد، در پاسخ ثانویه، پلاسماسل‌های بیشتری تولید شده و در نتیجه میزان آنتی‌بادی صدتاهزار برابر بیشتر می‌باشد.

1-primary response
2- secondary response

www.bbooks.ir

در بخش بازوی سلولی پاسخ ایمنی، شناسایی مجموعه آنتی‌ژن – MHC توسط لفنوسیت بالغ، سبب تحریک گسترش کلونی به سلول‌های T اجرایی و سلول‌های T خاطره‌ای می‌گردد. همانند پاسخ ایمنی هومورال، پاسخ ثانویه سلولی سریع‌تر و قدرتمندتر از پاسخ اولیه می‌باشد.

- نقص عملکرد ایمنی و پیامدهای آن

مروری اجمالی بر ایمنی اکتسابی و ذاتی به گونه‌ای که در بالا اشاره شد، شمایی از یک سیستم فعال چند جزئی را ترسیم می‌کند که میزبان را در برابر تهاجم پاتوژن‌های عامل بیماری‌های عفونی و نیز سلول‌های تغییر یافته محافظت می‌کند. گاهی اوقات نقایصی در سیستم ایمنی به وجود می‌آید که این سیستم در دفاع از میزبان دچار شکست می‌شود و گاهی اوقات فعالیت بیش از حد آن موجب ناراحتی‌ها، بیماری‌های ناتوان کننده و حتی مرگ می‌شود. شماری از تظاهرات شایع نقص عملکرد ایمنی به قرار زیر می‌باشد:

- آلرژی و آسم
- رد پیوند و بیماری پیوند علیه میزبان
- بیماری خود ایمن
- نقص ایمنی

آلرژی و آسم از نتایج پاسخ‌های نامناسب ایمنی بوده واغلب مربوط به آنتی‌ژن‌های شایعی مانند گردهٔ گیاهان، غذا و یا شوره بدن حیوانات می‌باشند. این امکان که برخی مواد به جای این که سبب مصونیت شوند، باعث القای افزایش حساسیت می‌شوند، در حدود سال ۱۹۰۳ و توسط چارلز ریچه[1] تشخیص داده شد. وی تلاش کرد تا سگ‌ها را علیه توکسین یک نوع عروس دریایی ایمن کند. او و همکارش پاول پورتیه مشاهده نمودند سگ‌هایی که در معرض دوزهای غیر کشندهٔ این توکسین قرار می‌گرفتند، به سرعت با آن واکنش داده و در

1-Charles Richet

www.bbooks.ir

مواجهۀ بعـدی حتـی مقـادیر انـدکی از توکسـین کشـنده بـود. ریچـه نتیجـه گرفـت کـه ایمونیزاسیون یا واکسیناسیون موفق و کارآمد منجر به مصونیت (فیلاکسی)می‌شود، درحـالی که پیامد عکس آن منجر به آنافیلاکسی می‌گردد، در نتیجه برخورد با آنتی‌ژن در صـورت تکرار، به صورت بالقوه می‌تواند منجر به یک حساسیت کشنده شود. ریچـه بواسـطۀ کشـف پاسخ آنافیلاکسی در سال ۱۹۱۳ جایزه نوبل را دریافت نمود.

خوشبختانه اغلب واکنش‌های آلرژیک در انسان به سرعت کشنده نمی‌باشند. یک پاسخ آنافیلاکسی یا آلرژیک، معمولاً با دخالت یک نوع آنتی‌بادی با نام IgE صورت می‌گیـرد. با اتصال IgE به آنتی‌ژن (آلرژن)، موادی رهـا مـی‌شـوند کـه موجـب خـارش والتهـاب می‌گردند. هنگامی که یک فرد آلرژیک با یک آلرژن مواجه می‌شود،علائمی چون سـرفه، عطسه، دشواری تنفس (آسم) ودرماتیت یا جوش‌های پوستی را نشان می‌دهد و یا این که در موارد بسیار نادر در نتیجه انسداد مجاری هوایی بواسطۀ التهاب، دچارخفگی مـی‌شـود (شکل ۱۴-۱).

شکل ۱۴-۱: بیماری که از تورم چشم راست خود در نتیجه واکنش آلرژی به نیش زنبور عسل رنج می برد. این واکنش ازدیاد حساسیت ناشی از حساس شدن در مواجهه قبلی با زهر زنبور عسل می باشد.

بخش وسیعی از مرکز بهداشتی جهت مراقبت از مبتلایان به آسم و آلرژی تخصص یافته است. در ایالات متحده، اغلـب از معمـولی‌تـرین دلایـل مراجعـه بـه مطـب پزشـکان و یـا بخش‌های اورژانس بیمارستان‌ها موارد آسم و آلرژی می‌باشند.

www.bbooks.ir

زمانی که سیستم ایمنی با سلول‌ها و یا بافت بیگانه مواجه می‌شود، جهت پاکسازی میزبان از عامل مهاجم، به شدت بـه آن پاسـخ مـی‌دهـد. چنـین پاسـخی ممکـن اسـت در برابـر سلول‌های جهش یافته میزبان همچون سلول‌های سرطانی نیز به وجود آید. با ایـن حـال، در برخی موارد، پیوند سلول‌ها و یا یک عضو از یک فرد دیگر اگر چه توسط سیستم ایمنـی بـه عنوان بیگانه تلقی می‌شود ولی تنها درمان ممکن بـرای برخـی بیمـاری‌هـای تهدیـد کننـده می‌باشد. برای مثال، برآورد می‌شود تنها بیش از ۷۰۰۰۰ نفر در ایالات متحده از پیوند کلیه بهره‌مند هستند. این واقعیت که سیستم ایمنی در نتیجه تشخیص اعضای پیوندی به عنـوان بیگانه به آنها حمله کرده و آنها را پس خواهد زد، مانعی بر سر راه چنین درمان‌های نجـات بخشی می‌باشد. خطر دیگری که در پیوند وجود دارد، این است که تمام سلول‌های پیونـدی با عملکرد ایمنی (مثل زمانی که مغز استخوان به منظور بازسازی عملکرد ایمنی، پیونـد زده می‌شود) ممکن است میزبان جدید را به عنوان بیگانه تلقی کرده و علیه آن فعال شوند. ایـن واکنش که **بیماری پیوند علیه میزبان**[1] نامیده می‌شود ممکن است کشنده باشد. واکـنش رد پیوند و بیماری پیوند علیه میزبان را می‌توان با داروهایی سرکوب نمود؛ امـا درمـان بـا ایـن داروها عملکرد عمومی ایمنی بدن را سرکوب می‌کند، به گونه‌ای که میزبان دیگـر قـادر بـه دفاع از طریق سیستم ایمنی خود نبوده ومستعد ابتلا بـه بیمـاری هـای عفـونی مـی‌گـردد. بررسی‌ها در زمینهٔ پیوند، نقش به سزایی در پیشرت علم ایمونولوژی داشته‌اند. جایزه نوبـل در سال ۱۹۳۰ به علت کشف گروه‌های خونی ABO بـه کـارل لاندشـتاینر اعطـا گردیـد. کشف گروه‌های خونی ABO امکان انجام انتقال خون بـی خطـــر را فـــراهم سـاخت. در ســـال ۱۹۸۰اسنـــل[2]، داست[3] و بناسراف[4] مجمـــوعه اصل ســـازگـــاری بافتی را کشف

1-Graft versus host Disease (GVHD)
2-G. Snell
3- J. Dausset
4-B. Benacerraf

www.bbooks.ir

کردند و در سال ۱۹۹۱ توماس[1] و موری[2] بدلیل پیشرفت‌هایی که در علم پیوند ایجاد کردند جایزهٔ نوبل را دریافت نمودند. امکان پذیرش یک عضو بیگانه بدون سرکوب ایمنی بر علیه تمام آنتی‌ژن‌ها امروزه هنوز به صورت یک چالش برای ایمونولوژیست‌ها باقی مانده است.

در برخی افراد که سیستم ایمنی آنها بواسطه عدم تشخیص خودی از غیر خودی دچار نقص شده است، سیستم ایمنی به خود میزبان حمله می‌کند. این شرایط (خود ایمنی[3]) می‌تواند موجب برخی بیماری‌های مزمن ناتوان کننده شود. علائم بیماری‌های خود ایمنی متفاوت بوده وبه نوع بافت یا عضو مورد حمله قرار گرفته بستگی دارد. برای مثال مالتیپل اسکلروزیس[4] به موجب حمله سیستم ایمنی به پروتئین موجود در غلاف‌های عصبی مغز و سیستم اعصاب مرکزی شکل می‌گیرد. بیماری کرون[5] ناشی از حمله به بافت روده و آرتریت روماتوئید[6] در نتیجه حمله به مفاصل دست‌ها، پاها، بازوها و ساق پا ایجاد می‌شود. عوامل محیطی و ژنتیکی که سبب به راه‌اندازی و حمایت بیماری‌های خود ایمن می‌شوند، از مباحث رایج در تحقیقات ایمنی بویژه تحقیقات مربوط به بهبود روش‌های درمانی می‌باشند.

در صورتی که تمام اجزای ایمنی ذاتی و اکتسابی به علت اختلالات ژنتیکی دچار نقص شوند و یا این که تمام عملکرد ایمنی به علت تخریب توسط عوامل شیمیایی، فیزیکی یا زیستی از دست بروند، میزبان به **نقص ایمنی**[7] مبتلا خواهد شد. شدت بیماری‌های نقص ایمنی انتخابی می‌باشد که فقدان تنها یک نوع از ایمونوگلوبین‌ها (IgA) می‌باشد. علائم نقص ایمنی ممکن است شامل افزایش انواع خاصی از عفونت‌ها یا هیچ علامتی نداشته باشد.

1-E. D. Thomas
2-J. Murray
3-autoimmunity
4-multiple sclerosis
5-Crohn's disease
6-Rheumatoid Arthritis
7-immunodeficiency

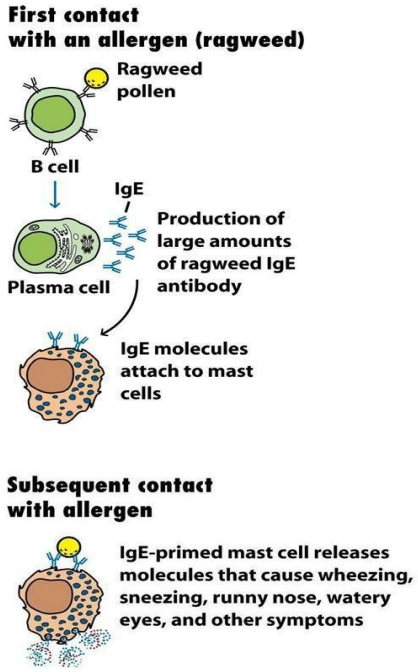
www.bbooks.ir

این بخش به طور خلاصه به معرض سیستم ایمنی پرداخت و کلیات اصلی نحوه عملکرد این سیستم پیچیده جهت حفاظت میزبان علیه بیماری‌ها را شرح داد. در فصل‌های بعدی ساختار و عملکرد سلول‌ها، اعضا و مولکول‌های تشکیل دهندهٔ این سیستم را مورد بررسی قرا می‌دهیم؛ همچنین اصول رایج فعالیت اجزای ایمنی و بررسی‌هایی که منجر به کشف این مکانیسم‌ها شد را توضیح خواهیم داد. زمینه‌های بخصوصی از ایمونولوژی کاربردی، مانند ایمنی علیه بیماری‌های عفونی ، سرطان، اقدامات متداول جهت واکسیناسیون وانواع اختلالات ایمنی، موضوع فصل‌های بعدی خواهند بود.

- تمرکز بالینی

اگر چه سیستم ایمنی جهت محافظت از میزبان در برابر عفونت و سرطان به کار گرفته می شود، اما پاسخ‌های نامناسب این سیستم ممکن است به بیماری منجر شود. از جمله نتایج نقص عملکرد ایمنی آلرژی و آسم می‌باشد که هردو از مشکلات جدی در سلامت عمومی محسوب می‌شوند. اساس پاسخ‌های آسم و آلرژی به آنتی‌ژن‌های محیطی در فصل ۱۵ به تفصیل بیان خواهد شد. به طور ساده می‌توان چنین بیان نمود که واکنش‌های آلرژی، پاسخ‌های مربوط به یک محرک آنتی‌ژنی می‌باشند که ایمنی ایجاد شده بر علیه آن معمولاً بر پایه تولید IgE می‌باشد . مواجهه آنتی‌ژن با IgE موجب رهاسازی مولکول هایی می‌شود که سبب بروز علائم عطسه و درماتیت تا التهاب ریه‌ها (در حملات آسم) می‌شود. سری وقایع ایجاد شده در یک پاسخ آلرژی در شکل ترسیم شده است.

www.bbooks.ir



سری وقایعی که منجر به پاسخ آلرژیک می گردد. زمانی که آنتی بادی تولید شده در اثر مواجهه بـا آلـرژن از رده IgE باشد، این آنتی بادی ها با ماست سل ها واکنش می دهنـد. واکـنش بعـدی آنتـی بـادی متصـل بـه پذیرنده و آلرژن منجر به ترشح مولکول هایی از ماست سل می شود که مسئول علائم آلرژی می باشند.

رنج ناشی از آلرژی‌های شایع مثل آلرژی به گردهٔ گیاهان زودگذر بوده وشامل عطسـه و آبریزش بینی می‌باشد که در مقایسه با عوارض ناشی از سرطان، ایست قلبی یا عفونت‌هـای جدی، بسیار جزئی وناچیز می‌باشند. یک واکنش آلرژی وخیم‌تر، آسم می‌باشـد؛ آسـم یـک بیماری ریوی مزمن همراه با التهاب بوده که بواسطه آنتی‌ژن‌های محیطی یا عوامل عفونت‌زا ایجاد می‌شود و موجب اختلالاتی در تنفس می‌گردد. طبق آمار سال ۲۰۰۲ از مراکز کنتـرل بیماری ایالات متحده، بیست میلیون نفر از این بیماری رنج می‌برند و هرساله دوازده میلـون نفر یک حملهٔ آسم را تجربه می‌کنند و همچنین حدود پنج هزار نفـر از آسـم جـان خـود را ازدست می‌دهند. در بیست سال گذشته شیوع آسم در دنیای غرب دو برابر شده است.

www.bbooks.ir

اهمیت آلرژی به عنوان یک مشکل سلامت عمومی به واسطهٔ این واقعیت تأکید می‌شود که هر ساله شمار افرادی که به دلیل فشار خون، آزمون‌های معمول پزشکی و یا بارداری طبیعی به پزشک مراجعه می‌کنند از افرادی که در نتیجه آلرژی به پزشک مراجعه می‌کنند، کمتر می‌باشد. در واقع شایع‌ترین علت بستری شدن در بخش اورژانس بیمارستان، حملات آسم می‌باشد که حدود یک سوم مراجعین را شامل می‌شود. علاوه برافرادی که در بخش اورژانس درمان شده‌اند، در سال گذشته حدود ۱۶۰۰۰۰ نفر از آنها به علت آسم به مدت ۴-۳ روز در بیمارستان بستری شدند.

اگر چه تمام سنین و نژادها به بیماری مبتلا می‌شوند ولی مرگ ناشی از آسم در بین بچه‌های آمریکایی – آفریقایی ۳/۵ برابر بیش از حد معمول می‌باشد. عامل افزایش موارد آسم ومیزان بالای مرگ ومیر در بچه‌های آمریکایی – آفریقایی هنوز ناشناخته است. با این وجود بررسی‌های اخیر در رابطه با عوامل ژنتیکی دخیل در بیماری آلرژی می‌تواند برخی از آنها را آشکار سازد. مشکلات جدی سلامت عمومی در نتیجه آلرژی غذایی به ویژه بادام زمینی و آجیل‌ها (بادام، فندق و گردو) در حال افزایش است. تقریباً ۳ میلیون آمریکایی به این غذاها آلرژی دارند که منجر به واکنش‌های آلرژی غذایی کشنده و یا نیمه کشنده (آنافیلاکسی) در آنها می‌شود. اگر چه پرهیز از این غذاها می‌تواند از عوارض مضر آنها پیشگیری نماید، اما استفاده رایج از پروتئین‌های بادام زمینی در انواع غذاها اجتناب افراد آلرژیک از این مواد را بسیار دشوار ساخته است.

حداقل ۵۰٪ واکنش‌های جدی، ناشی از در معرض قرار گرفتن تصادفی با بادام زمینی، آجیل‌ها یا دیگر محصولات می‌باشد. این امر منجربه رویکرد بحث‌برانگیز ممنوعیت بادام زمینی در مدارس و هواپیماها شده است. معمولاً آنافیلاکسی طی یک ساعت پس از هضم آلرژن‌های غذایی رخ داده و درمان مؤثر، اپی نفرین تزریقی می‌باشد. در افرادی که مستعد حملات آنافیلاکسی می‌باشند، در مواقع مواجهه با آلرژن، اغلب از اپی‌نفرین تزریق استفاده می‌شود.

www.bbooks.ir

علاوه بر ناراحتی‌ها و رنج‌های ناشی از پاسخ‌های نامناسب ایمنی یا آلرژی به آنتی‌ژن‌هـای محیطی ، هزینه مربوط به زمان کاری تلف شده و مراقبت بیمارانی که از این بیماری‌ها رنج می‌برند و حدود ۲۰ میلیارد دلار برآورد می‌شود، حیرت‌آور می‌باشد. این هزینه‌ها تلاش‌های وسیع ایمونولوژیست‌های پایه و بالینی و متخصصین آلرژی را جهت رفع رنـج ناشـی از ایـن اختلالات، به خوبی توجیه می‌کند.

- خلاصه

- ایمنی، حالت دفاعی علیه مواد یا ارگانیسم‌های بیگانه (آنتی‌ژن‌ها)می‌باشد. مهره‌داران دو نوع ایمنی ذاتی و اکتسابی دارند.
- ایمنی ذاتی یک خط دفاعی اولیه را تشکیل می‌دهد که شامل سدها، سلول‌های بیگانه خوار و مولکول‌هایی می‌باشند که پاتوژن‌ها را شناسایی می‌کنند.
- ایمنی اکتسابی و ذاتی به صورت مشترک عمل می‌کنند. با فعال شدن پاسخ ایمنی ذاتی، پیام‌هایی به وجود می‌آیند که متعاقب آنها، پاسخ ایمنی اکتسابی تحریک می‌شود.
- پاسخ‌های ایمنی اکتسابی چهار خصوصیت دارند: ویژگی، تنوع، خاطره و تشخیص خودی از غیرخودی.
- ویژگی بالای ایمنی اکتسابی، در مولکول‌هایی (آنتی‌بادی‌ها و پذیرنده‌های سلول T) که آنتی‌ژن خاصی را تشخیص داده و به آن متصل می‌شوند،نهفته می‌باشد.
- آنتی‌بادی‌ها مستقیماً آنتی‌ژن را تشخیص داده و با آن واکنش می‌دهند. پذیرنده‌های سلول T تنها آنتی‌ژن را همراه با مولکول‌های مجموعه اصلی سازگاری بافتی (MHC) تشخیص می‌دهند.
- دو زیر جمعیت عمده از لنفوسیت‌های T وجوددارند، سلول‌های T کمک کننده $CD4^+$ (T_H) و سایتوتوکسیک $CD8^+$ (T_C)که سلول‌های T ساتیوتوکسیک (CTLs) از آنها به وجود می‌آیند.

www.bbooks.ir

- اختلال عملکرد ایمنی شامل بیماری‌هایی همچون آلرژی و آسم و همچنین نقص ایمنی و خود ایمنی می‌باشد.

سئوالات درسی

۱- چرا واکسن جنر در گذشته بهترین روش برای اعطای مقاومت نسبت به آبله بود؟

۲- در درمان هاری که توسط پاستور صورت گرفت، ایمنی فعال یا غیر فعال نسبت به ویروس هاری اعمال می‌شد؟ آیا روشی جهت آزمودن این موضوع وجود دارد؟

۳- نوزادان بلافاصله پس از تولد، اغلب در خطر عفونت با استرپتوکوک‌های گروه B می‌باشند. واکسنی جهت تزریق در دوران بارداری به مادران پیشنهاد شده است. چگونه ایمن سازی مادر می‌تواند به نوزاد کمک کند؟

۴- هر کدام از گزینه‌های زیر مربوط به کدام سیستم ایمنی می‌باشند. از H برای بازوی هومورال و از CM برای بازوی سلولی استفاده کنید. برخی از گزینه‌ها ممکن است هر دو نوع ایمنی را شامل شوند:

الف) مولکول‌های MHC کلاس I

ب) پاسخ به عفونت ویروسی

پ) سلول‌های T_H

ت) پاسخ متعاقب پیوند عضو

ث) پردازش آنتی‌ژن

ج) سلول‌های Tc

چ) سلول‌های B

ح)سلول‌های T

خ) پاسخ به عفونت باکتریایی خارج سلول

د) ترشح آنتی‌بادی‌ها

www.bbooks.ir

ذ) کشتن سلول‌های خودی آلوده به ویروس

۵- ایمنی اکتسابی، چهار خصوصیت بارز دارد که مربوط به لنفوسیت‌ها می‌باشد. این چهار خصوصیت را نام برده و به اختصار توضیح دهید که چگونه به وجود می‌آیند؟

۶- سه خصوصیت از پاسخ ایمنی ثانویه که آنها را پاسخ ایمنی اولیه متمایز می‌سازند را نام ببرید؟

۷- چهار نوع از مولکول‌های متصل شونده به آنتی‌ژن که توسط سیستم ایمنی به کار گرفته می‌شوند (پذیرنده‌های سلول MHC,T کلاس I, II و آنتی‌بادی‌ها) را در خصوصیات زیر با هم مقایسه کرده و از یکدیگر متمایز کنید:

الف) ویژگی برای آنتی‌ژن

ب) عرضه سلولی

پ) روش شناسایی آنتی‌ژن

۸- جاهای خالی را با مناسب‌ترین گزینه پر کنید.

الف) ----------، ---------- و ---------- همگی به عنوان سلول‌های عرضه کنندهٔ آنتی‌ژن عمل می‌نمایند.

ب) سلول‌های عرضه کنندهٔ آنتی‌ژن، یک پیام ---------- برای سلول‌های ---------- ارائه می‌دهند.

پ) تنها سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن مولکول‌های MHC کلاس ----- را عرضه می‌کنند، در حای که تقریباً تمام سلول‌ها مولکول‌های MHC -------کلاس را عرضه می‌کنند.

ت) ---------- بازویی از سیستم ایمنی می‌باشد که به دلیل آنتی‌بادی‌هایی که در پاسخ به برخی پاتوژن‌ها تولید می‌کند به این نام خوانده می‌شود و قبل از مواجهه با پاتوژن لازم است تا این بخش از ایمنی ایجاد شود.

www.bbooks.ir

ث) یک واژه علمی که عموماً به سلول‌های سفید خونی اتلاق می‌شود ------- می‌باشد.

ج) برای این که سلول‌های T بتوانند به طور مؤثری به مولکول‌های MHC متصل شوند، بایستی کمک پذیرنده‌هایی داشته باشند. کمک پذیرنده جهت تشخیص MHC-I---------- و کمک پذیرنده برای تشخیص MHC-II ---------- می‌باشد.

چ) بخشی از آنتی‌ژن که آنتی‌بادی به آن متصل می‌شود ------- خوانده می‌شود.

۹- سلول T ، محدود به MHC-I می‌باشد. این به چه معنی است؟

۱۰- ایمنی ذاتی و اکتسابی به طور مشترک با هم عمل می‌کنند و با مسیرهای وابسته به یکدیگر نقش محافظتی میزبان را بر عهده دارند. همکاری این دو را شرح دهید.

۱۱- نمونه‌هایی از پیامدهای شدید و ملایم نقص عملکرد ایمنی را نام ببرید. امروزه معمول‌ترین عامل نقص ایمنی در سراسر جهان چیست؟

۱۲- کدامیک از جملات زیر در مورد شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول‌های B و Tصحیح می‌باشد؟

الف) سلول‌های B آنتی‌ژن‌های عرضه شده توسط مولکول‌های MHC کلاس I و II را تشخیص می‌دهند.

ب) هردوی این سلول‌ها آنی‌ژن‌های متصل به ماتریکس خارج سلولی را تشخیص می‌دهند.

ت) سلول‌های T تنها آنتی‌ژن‌های عرضه شده توسط مولکول‌های MHCکلاس I و II را تشخیص می‌دهند.

۱۳- کدامیک از جملات زیر درست و کدامیک نادرست می‌باشند؟ اگر فکر می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

www.bbooks.ir

الف) تزریقات یادآور لازم می‌باشند، زیرا مواجهه مکرر با یک آنتی‌ژن موجب تولید پاسخ ایمنی قوی‌تر می‌شود.

ب) ژن مربوط به پذیرنده سلول T قبل از این که نسخه‌برداری شود، بایستی برش داده شده، پردازش شود و قطعاتی از آن به دقت حذف شود.

پ) بدن ما از طریق غشاهای مخاطی، با بیشترین حملات از جانب مهاجمین بیگانه مواجه می‌باشد.

ت) افزایش تولید آنتی‌بادی در سیستم ایمنی ناشی ازحضور آنتی‌ژن می‌باشد.

ث) آنتی‌ژن مستقیماً به سلول T متصل می‌شود.

ج) پپتیدهای متصل به شیار مولکول‌های MHC-I در سیتوزول اضافه می‌شوند.

چ) به منظور بلوغ سلول‌های B به پلاسماسل، آنها به کمک سلول‌های T نیاز دارند.

۱۴- نوع سلول را با پذیرنده‌ای که بر روی آن یافت می‌شود تطبیق دهید.

الف) سلول عرضه کننده آنتی‌ژن	۱- CD8
ب) سلول B	۲- MHC
پ) سلول T_H	۳- BCR
ت) سلول Tc	۴- CD4

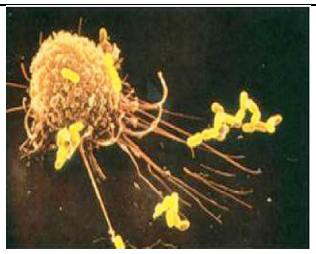
www.bbooks.ir

فصل دوم

سلول‌ها و اندام‌های سیستم ایمنی

- خونسازی
- سلول‌های سیستم ایمنی
- اعضای سیستم ایمنی
- مقایسه سلول‌ها و اعضای لنفاوی از لحاظ تکاملی

www.bbooks.ir



بسیاری از سلول‌ها، اندام‌ها و بافت‌های سیستم ایمنی در سرتاسر بدن وجود دارند. آنها از لحاظ عملکرد می‌توان به دو گروه عمده طبقه‌بندی نمود. **اندام‌های لنفاوی اولیه**[1] که ریز محیط مناسبی را برای شکل‌گیری و بلوغ لنفوسیت‌ها فراهم می‌کنند و **اندام‌های لنفاوی ثانویه**[2] که آنتی‌ژن را معمولاً در بافت‌های مجاور یا فضاهای عروقی به دام انداخته و محل‌هایی هستند که در آنجا لنفوسیت‌های بالغ به صورت کارآمدی با آنتی‌ژن واکنش می‌دهند. عروق خونی و لنفاوی، این اعضا را به هم مرتبط می‌سازند.

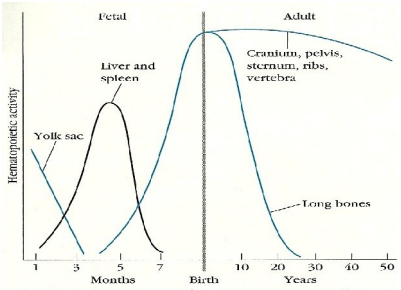
- خونسازی

تمام سلول‌های خونی از یک نوع سلول به نام **سلول بنیادی خونساز**[3] **(HSC)** به وجود می‌آیند. سلول‌های بنیادی، می‌توانند به سایر انواع سلول‌ها تمایز یابند. آنها خود تجدید شونده بوده و میزان جمعیت خود را با تقسیم سلولی حفظ می‌کنند. خونسازی[4] در انسان طی طی هفته‌های نخست تکوین در کیسه زرده جنینی آغاز می‌شود. سلول‌های بنیادی کیسه زرده به سلول‌های اریتروئیدی اولیه حاوی هموگلوبین جنینی تمایز می‌یابند. نزدیک ماه سوم حاملگی، سلول‌های بنیادی خونسار از کیسه زرده به کبد جنینی و سپس طحال مهاجرت می‌کنند. این دو اندام از ماه سوم تا هفتم حاملگی نقش اصلی خونسازی را برعهده دارند.

1-primary lymphoid organs
2-secondary lymphoid organs
3-hematopoiectic stem cell
4-hematopoiesis

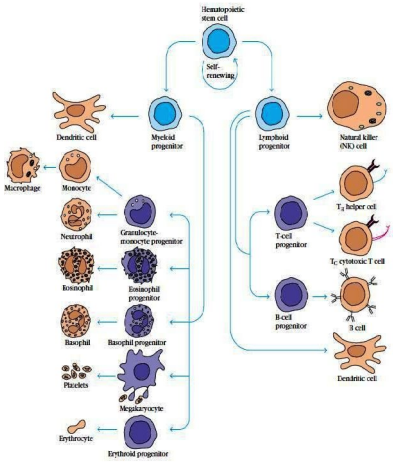
www.bbooks.ir

پس از آن، تمایز سلول‌های بنیادی خونساز در مغز استخوان صورت گرفته و در نزدیکی تولد، کبد و طحال خونسازی کمی داشته یا اصلاً خونسازی نمی‌کنند. (شکل ۱-۲).



شکل ۱-۲: جایگاه خونسازی در زمان های مختلف (پیش و پس از تولد) در طی تکوین انسان

در اوایل خونسازی ، یک سلول بنیادی چند قوه یا خاستگاه سلول پیش‌ساز میلوئیدو[1] یا خاستگاه سلول پیش‌ساز لنفوئید[2] می‌گردد (شکل ۲-۲).



شکل مروری ۲-۲: خونسازی

1-myeloid progenitor cell
2-lymphoid progenitor cell

www.bbooks.ir

سلول‌های پیش‌ساز توان خود تجدید شوندگی خود را از دست داده و بـه یـک دودمـان خاص سلولی متعهد می‌شوند. سلول‌های پیش‌ساز لنفوئیدی، خاستگاه سلول‌های B، T و NK می‌باشند. سلول‌های پیش‌ساز میلوئیدی باعث ایجاد گلبول‌های قرمز خونی،طیـف وسـیعی از گلبول‌های سفید (نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیـل‌هـا، بازوفیـل‌هـا ، منوسـیت‌هـا، ماسـت‌سـل‌هـا و سلول‌های دندریتیک) و مگاکاریوسیت‌ها می‌باشند. در مغـز اسـتخوان، سـلول‌هـای خـونی و نوادگان حاصل از آنها در شبکه‌ای از سلول‌های استرومایی رشـد، تمـایز و بلـوغ مـی‌یابنـد. سلول‌های استرومایی با فراهم کردن ریز محیط القا کنندهٔ خونسـازی[1] (HIM) کـه شـامل سلول‌های ماتریکس و عوامل تقویت کننده رشد و تمایز می‌باشند، تأثیر به سزایی در تمـایز سلول‌های بنیادی خونساز دارند. بسیاری از این عوامل رشد، عوامل محلولی هستند کـه بـا انتشار به سلول‌های هدف می‌رسند، اگر چه سایر آنها مولکول‌های غشـایی روی سـلول‌هـای استرومایی هستند که نیازمند تماس مستقیم سلول – سلول می‌باشند.

در طول خونسازی ، از شمار اندکی سلول‌هـای بنیـادی خونسـاز و طـی عبـور از مراحـل پیچیده تمایز، اریتروسیت‌ها و انواع گوناگون سلول‌های سفید خونی به وجود مـی‌آینـد. چـرا یک چنین مراحل پیچیده‌ایی برای تولید سلول‌های خونی لازم است؟ در سرتا سر طول عمر، یک شخص حدود $۱۰^{۱۶}$ سلول خونی تولید می‌کند و این امـر نیازمنـد تقسـیم‌هـای فراوانـی سلولی می‌باشد. جان دیک[2] اشاره نمود که تقسیم سلولی در معرض خطا بـوده و فرصـتی را برای ایجاد جهش در ژنوم فراهم می‌آورد که برخی از آنها ممکن است منجـر بـه سـرطان شوند. او پیشنهاد نمود که برای به حداقل رساندن چنـین حـوادث مصـیبت‌بـاری، سیسـتم خونساز یک ابتکار هوشمندانه به خرج داده است؛ بدین صورت که تمایز سلولی به جای این که مستقیماً در خود جمعیت سلول بنیادی خونساز صورت بگیرد، بیشـتر در پـیش‌سـازهای تمایز یافته‌تر انجام می‌گیرد. این پیش‌سازهای تمایز یافته‌تر، خود تجدید شونده نمی‌باشـند و

1-hematopoietic-inducing microenvironment (HIM)
2-John Dick

www.bbooks.ir

سلول‌های بالغ خونی تشکیل شده از آنها قادر به تقسیم نبوده و یا تنها تحت شرایط خاصی تقسیم می‌شوند. در نتیجه، احتمال ایجاد سرطان در سلول‌های بنیادی خونساز و نوادگان نزدیک‌تر به آنها، بسیار پایین می‌آید، هر چند که این احتمال به صفر نمی‌رسد.

- خونسازی در سطح ژن تنظیم می‌شود

تکوین سلول‌های بنیادی خونساز چند قوه[1] به انواع مختلف سلول‌ها، نیازمند بیان مجموعه‌ای از ژن‌های تعیین کننده دودمان و ژن‌های اختصاصی دودمان در زمان مناسب و با نظم خاص می‌باشد. پروتئین‌هایی که توسط این ژن‌ها تولید می‌شوند، اجزای ضروری شبکه‌های تنظیمی هستند که تمایز سلول‌های بنیادی را هدایت می‌کنند. فناوری تخریب ژن، یکی از قوی‌ترین روش‌های موجود برای تعیین نقش ژن‌های خاص در طیف وسیعی از مراحل بوده و سهم به سزایی در تشخیص عملکرد بسیاری از ژن‌های تنظیم کننده خونسازی دارد. اگرچه راه درازی تا درک کامل این امر باقی مانده، ولی با تخریب هدف‌دار و سایر روش‌ها، برخی از عوامل رونویسی که نقش مهمی در خونسازی دارند، شناسایی شده‌اند (جدول ۱-۲).

TABLE 2-1 Some transcription factors essential for hematopoietic lineages

Factor	Dependent lineage
GATA-1	Erythroid
GATA-2	Erythroid, myeloid, lymphoid
PU.1	Erythroid (maturational stages), myeloid (later stages), lymphoid
Bmi-1	All hematopoietic lineages
Ikaros	Lymphoid
Oct-2	B lymphoid (differentiation of B cells into plasma cells)

برخی از این عوامل رونویسی روی بسیاری از دودمان‌های خونساز مختلف تأثیر می‌گذارند و برخی دیگر، تنها روی یک دودمان مؤثر می‌باشند. یکی از عوامل رونویسی که روی چندین دودمان اثر می‌گذارد، GATA-2 می‌باشد. یک ژن کارآمد GATA-2 که این عامل

1-pluripotent

www.bbooks.ir

رونویسی را تولید می‌کند، برای تکوین دودمان‌های میلوئید، لنفوئید و اریتروئید ضروری می‌باشد. همان‌گونه که انتظار می‌رود، جانورانی که این ژن در آنها تخریب شده، طی تکامل جنینی از بین می‌روند. در مقایسه با GATA-2 عامل رونویسی دیگری به نام Ikaros، تنها برای تکوین سلول‌های رده لنفوئید مورد نیاز می‌باشد.

هرچند که موش‌هایی که ژن Ikaros تخریب شده دارند، میزان قابل توجهی از سلول‌های T، B و NKها تولید نمی‌کنند، ولی تولید اریتروسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و سایر سلول‌های ردهٔ میلوئید در آنها دچار نقص نمی‌باشد.

این موش‌ها در طی تکوین جنینی زنده می‌مانند اما به شدت از لحاظ ایمنی دچار نقص می‌باشند و در سنین ابتدایی در اثر عفونت می‌میرند. تنظیم کنندهٔ رونویسی دیگر با Bmi-1 یک سرکوبگر رونویسی بوده و شاخص کلیدی برای توانایی خود تجدید شوندگی سلول‌های بنیادی خونساز می‌باشد. وقتی این ژن تخریب شود، موش‌ها طی دو ماه پس از تولد می‌میرند. علت مرگ، احتمالاً نقص مغز استخوان در تولید سلول‌های سفید و قرمز خونی می‌باشد. این نقص با فقدان خود تجدید شوندگی سلول‌های بنیادی خونساز نشان داده می‌شود.

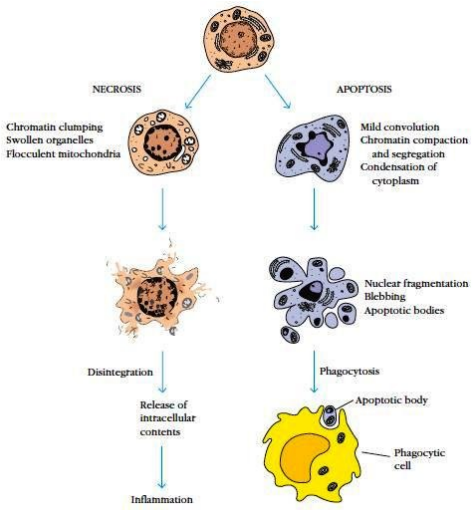
- عوامل بسیاری در هومئوستاز خونسازی دخیل می‌باشند

خونسازی فرآیندی باثبات می‌باشد که سلول‌های بالغ خونی با همان سرعتی که از بین می‌روند، تولید می‌شوند. میانگین طول عمر اریتروسیت‌ها ۱۲۰ روز بوده و طول عمر سلول‌های سفید از ۱ روز برای نوتروفیل‌ها تا ۲۰-۳۰ سال برای لنفوسیت‌ها متغیر است. برای پایدار نگه‌داشتن این حالت ثابت، انسان می‌بایست به طور میانگین ، روزانه $۳/۷ \times ۱۰^{۱۱}$ سلول سفید خونی تولید کند. این میزان توسط مکانیسم‌های پیچیده‌ای تنظیم می‌شود. عوامل تنظیمی می‌توانند بر روی سرعت تولید و تمایز سلولی تأثیر بگذارند. این عوامل همچنین می‌توانند موجب القای مرگ در سلول‌های خونساز شوند.

www.bbooks.ir

- مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، مکانیسم اصلی هومئوستاز می‌باشد

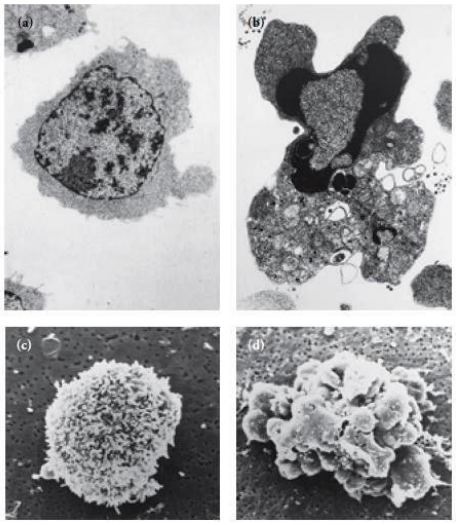
مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی[1] (PCD) ، فرآیندی تحریک پذیر و منظم می‌باشد که در آن، خود سلول به طور فعال در مرگ خویش شرکت می‌کند و عامل اساسی در تنظیم هومئوستاز جمعیت انواع مختلف سلول‌ها می باشد. سلول‌هایی که متحمل PCD می‌شوند، اغلب تغییرات مورفولوژیک مشخصی را نشان می‌دهند که در مجموع **آپوپتوپوز**[2] نامیده می‌شود (شکل ۳-۲ و ۴-۲) . این تغییرات شامل کاهش قابل توجه حجم سلول، تغییرات اسکلت سلولی، تراکم کروماتین و تجزیه DNA به قطعات کوچکتر می‌باشد.



شکل ۳-۲: مقایسه تغییرات مورفولوژی در طی آپوپتوز و نکروز

1-programmed cell death
2-apoptosis

www.bbooks.ir



شکل ۴-۲: میکروگراف نوری تیموسیت طبیعی (a) و تیموسیت در حال آپوپتوز (b). میکروگراف الکترونی تیموسیت طبیعی (c) و تیموسیت در حال آپوپتوز (d).

هر کدام از لکوسیت‌های تولید شده طی خونسازی، طول عمر مشخصی دارندو سپس توسط مرگ برنامه‌ریزی شده، می‌میرند. برای مثال، در یک انسان بالغ تقریباً 5×10^{10} نوتروفیل در گردش وجود دارد، این سلول‌ها طول عمری یک روزه دارند و تعداد ثابت این سلول‌ها با تولید نوتروفیل‌ها حفظ می‌شود. به جز خونسازی، آپوپتوز در سایر فرآیندهای ایمنی مانند تحمل و کشتن سلول‌های هدف توسط سلول‌های Tc یا NK مهم می‌باشد. جزئییات مکانیسم‌هایی که طی آنها آپوپتوز بروز می‌کند، در فصل‌های ۱۰ و ۱۴ توضیح داده شده است. بیان چندین ژن، با آپوپتوز لکوسیت‌ها و سایر انواع سلول‌ها توأم می باشد (جدول ۲-۲).

www.bbooks.ir

TABLE 2-2 Genes that regulate apoptosis

Gene	Function	Role in apoptosis
bcl-2	Prevents apoptosis	Inhibits
bax	Opposes *bcl-2*	Promotes
bcl-X_L (bcl-Long)	Prevents apoptosis	Inhibits
bcl-X_S (bcl-Short)	Opposes *bcl-X_L*	Promotes
caspase (several different ones)	Protease	Promotes
Fas	Induces apoptosis	Initiates

برخی از این پروتئین‌ها آپوپتوز را القا می‌کنند و سایرین برای پیشبرد آپوپتوز حیاتی می‌باشند، برخی نیز آپوپتوز را مهار می‌کنند برای مثال آپوپتوز را می‌توان در تیموسیت‌ها توسط پرتودهی القا نمود. بسیاری از مرگ‌های سلولی توسط پیام‌های ناشی از fas القا می‌شوند و پروتئازهایی به نام کاسپازها، در آبشاری از واکنش‌ها که منجر به آپوپتوز می‌شوند، شرکت دارند.

اعضای خانواده ژن‌های bcl-2 مثل bcl-2 و bcl-X_L محصولات پروتئینی را کد می‌کنند که آپوپتوز را مهار می‌کنند. به طور شگفت‌انگیزی، اولین عضو این خانواده ژنی (bcl-2) در مطالعاتی که ارتباطی با مرگ سلولی نداشتند، کشف گردید. در این مورد ژن bcl-2 مجاور نقطه شکست در جابه‌جایی کروموزومی لنفوم سلول B انسانی قرار داشت. جابه‌جایی سبب انتقال ژن bc1-2 به جایگاه زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین می‌گشت و رونویسی از ژن ایمونوگلبولین منجر به تولید بیش از حد پروتئین Bc1-2 در سلول‌های لنفوم می‌گردید. این گونه تصور می‌شود که مقادیر بالای Bc1-2 سبب تغییر شکل سلول‌های لنفاوی به سلول‌های سرطانی لنفوم می‌شود.

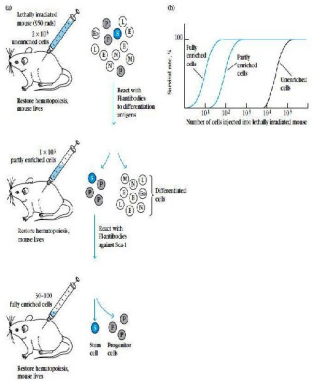
- سلول‌های بنیادی خونساز را می‌توان غنی نمود

ویسمن[1] و همکارانش روش جدیدی را برای افزایش غنای سلول‌های بنیادی خونساز موشی ایجاد کردند. این روش بر پایه استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی ضد مولکول‌هایی به نام

1-Weissman

www.bbooks.ir

آنتی‌ژن‌های تمایزی[1] که تنها بر روی سلول‌های خاصی عرضه می‌شوند، می‌باشد. آنها نمونه‌های به دست آمده از مغز استخوان را با آنتی‌بادی‌های نشاندار با مواد فلورسانت مجاور کردند؛ این آنتی‌بادی‌ها برای آنتی‌ژن‌های تمایزی سطح سلول‌های سفید و قرمز خونی بالغ اختصاصی بودند (شکل ۵-۲).



شکل ۵-۲: غنی سازی سلول های بنیادی چند توانه مغز استخوان.

سپس سلول‌های نشاندار شده توسط فلوسایتومتری با یک جدا کنندهٔ سلول فلوئورسنت جدا شدند پس از هر بار جداسازی سلول‌های باقیمانده را برای تعیین حداقل تعداد مورد نیاز جهت بازسازی سیستم خونساز موش‌ها که در معرض پرتو کشندهٔ X قرار گرفته بوند، آزمون نمودند. زمانی که مقدار سلول‌های بنیادی چند قوه در جمعیت باقی مانده، بیشتر می‌شود، سلول‌های کمتری برای بازسازی سیستم خونساز مورد نیاز می‌باشند. جداسازی سلول‌های خونساز، اجازه غنی سازی ۵۰ تا ۲۰۰ برابری سلول‌های بنیادی چند قوه را امکان‌پذیر می‌سازد. برای غنی‌سازی بیشتر سلول‌های بنیادی، جمعیت سلول‌های باقی مانده را با آنتی‌بادی‌های مختلف ضد آنتی‌ژن‌هایی که در مراحل اولیه خونسازی عرضه می‌شوند مجاور می‌کنند. یکی از این آنتی‌بادی‌ها، علیه آنتی‌ژن تمایزی به نام آنتی‌ژن سلول بنیادی -

1-differentation antigens

www.bbooks.ir

۱ (Sca-1) می‌باشد. مجاورت این آنتی‌بادی سبب به دام انداختن سلول‌های بنیادی تمایز نیافته شده و نمونه غنی‌شده از سلول‌های بنیادی چند قوه‌ای به دست می‌آید که تنها ۳۰ تا ۱۰۰ عدد از آنها قادر به بازسازی سیستم خونساز موش که پرتو X کشنده دریافت کرده‌اند، می‌باشند (جدول ۳-۲).

TABLE 2-3 Reconstitution of hematopoiesis by HSCs

Number of enriched HSCs	Number of mice reconstituted (%)
1	9 of 41 (21.9)
2	5 of 21 (23.8)
5	9 of 17 (52.9)
10	10 of 11 (90.9)
20	4 of 4 (100)

SOURCE: Adapted from M. Osawa et al., 1996, *Science* **273**:242.

ابزار اصلی شناسایی و تشخیص سلول‌های بنیادی خونساز انسان، از بررسی موش‌های SCID به دست آمده است. موش‌های SCID، لنفوسیت‌های B و T نداشته و قادر به ایجاد پاسخ ایمنی اکتسابی نمی‌باشند. در نتیجه، این حیوانات جمعیت‌های سلولی حاوی سلول‌های بنیادی خونساز یا بافت‌هایی مثل تیموس و مغز استخوان را پس نمی‌زنند. موش‌های نقص ایمنی، میزبان‌های جایگزین مناسبی برای مطالعات in vivo سلول‌های بنیادی انسانی می‌باشند. با پیوند قطعاتی از تیموس یا مغز استخوان به موش‌های SCID، آنها تمایز سلول‌های بنیادی خونساز انسانی را به سلول‌های بالغ خونی، حمایت می‌کنند. این روش امکان بررسی زیر جمعیت‌های $CD34^+$ و تاثیر عوامل رشد بر تمایز دودمان‌های مختلف خونی را فراهم می‌آورد.

- سلول‌های سیستم ایمنی

لنفوسیت‌ها دارای پذیرنده آنتی‌ژنی، سلول‌های اصلی ایمنی اکتسابی بوده ومسئول خصوصیاتی همچون تنوع، ویژگی و خاطره می‌باشند. همان‌گونه که لنفوسیت‌ها دارای اهمیت

www.bbooks.ir

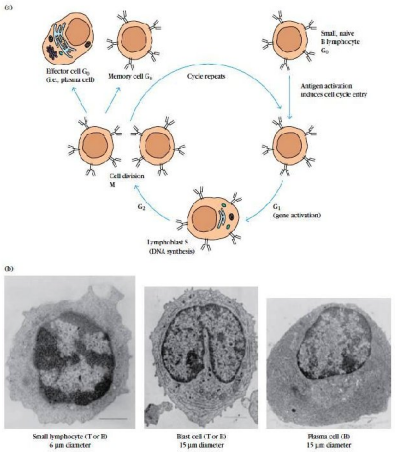
می‌باشند، سایر سلول‌های سفید خونی نیز در ایمنی اکتسابی دارای اهمیت می‌باشند. با این وجود، سیستم ایمنی ذاتی نیز سلول‌های مشابه با سیستم ایمنی اکتسابی داشته و نقش ضروری در القای پاسخ‌های اکتسابی دارد.

- سلول‌های لنفاوی

لنفوسیت‌ها ۴۰-۲۰ درصد سلول‌های سفید خونی و ۹۹ درصد سلول‌های داخل لنف را تشکیل می‌دهند (جدول ۴-۲). لنفوسیت‌ها را می‌توان براساس عملکرد و ترکیبات غشای سلولی به سه جمعیت عمده (سلول‌های B، T و کشنده طبیعی) تقسیم بندی نمود. هر کدام از سلول‌های B و T، خانواده پذیرنده‌های آنتی‌ژن مخصوص خود را حمل می‌کنند. سلول‌های کشنده طبیعی[1] (NK) لنفوسیت‌های بزرگ و گرانول داری بوده که بخشی از سیستم ایمنی ذاتی بوده و شاخص‌های سلولی B و T را عرضه نمی‌کنند. لنفوسیت‌های B و T دست نخورده که با آنتی‌ژن برخورد نکرده‌اند، سلول‌هایی کوچک ومتحرک و غیر بیگانه‌خوار می‌باشند که در مرحله GO چرخه سلولی قرار دارند. این سلول‌ها قطر ۶ میکرومتری داشته و به عنوان لنفوسیت‌های کوچک شناخته می‌شوند. لنفوسیت‌های دست نخورده معمولاً طول عمر کوتاهی دارند. تحت شرایط مناسب واکنش لنفوسیت‌های کوچک با آنتی‌ژن منجر به پیشرفت چرخه سلولی از مرحله GO به G_1 و سپس از آن مرحله S، G_2 و M می‌شود (شکل ۶-۲).

1-Natural killer(NK) cells

www.bbooks.ir



شکل۶-۲: (a) پیامد فعال سازی لنفوسیت های کوچک با واسطه آنتی ژن. (b) میکروگراف الکترونی یک لنفوسیت کوچک.

لنفوبلاست‌ها تکثیر شده و در نهایت به سلول‌های اجرایی یا خاطره‌ای تمایز می‌یابند. سلول‌های اجرایی معمولاً طول عمر چند روزه تا چند هفته‌ای دارند. پلاسماسل‌ها سیتوپلاسم مشخص حاوی شبکه‌اندوپلاسمی شامل لایه‌های فراوان و هم مرکز و وزیکول‌های گلژی فراوان می‌باشند (شکل ۶-۲). سلول‌های اجرایی ردهٔ T شامل سلول‌های T کمک کننده ترشح کننده سایتوکاین (T_H) و سلول‌های بالغ فعال شده توسط آنتی‌ژن از رده لنفوسیت‌های Tسایتوتوکسیک با نام CTL ها می‌باشند. برخی از نوادگان سلول‌های B و T به سلول‌های خاطره‌ای تمایز می‌یابند. رده‌های مختلف یا مراحل مختلف بلوغ لنفوسیت‌ها را می‌توان با آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد مولکول‌های غشایی این سلول‌ها شناسایی نمود. تمام آنتی‌بادی‌های منوکلونالی که با یک مولکول غشایی خاص واکنش می‌دهند، با همدیگر تحت عنوان خوشه‌های تمایزی[1] (CD) گروه بندی می‌شوند. هر آنتی‌بادی منوکلونال جدیدی که یک مولکول غشایی لکوسیت را شناسایی کند، اگر جزو CDهای شناخته شده باشد، نوع آن

1-cluster of differentiation

www.bbooks.ir

مشخص می‌شود؛ در غیر این صورت،CD جدیدی به آن تخصیص داده می‌شود که نشان دهنده جدیدبودن مولکول غشایی است. اگر چه نام گذاری CD در ابتدا برای مولکول‌های غشایی لکوسیت‌های انسانی به کار برده می‌شد، ولی مولکول‌های غشایی سایرگونه‌ها مثل موش نیز عموماً با همان CD مشخص می‌شوند. جدول۵-۲ فهرست برخی از CDهای رایج را نمایش می‌دهد.

TABLE 2-5 Common CD markers used to distinguish functional lymphocyte subpopulations

CD designation*	Function	B cell	T cell T_H	T cell T_C	NK cell
CD2	Adhesion molecule; signal transduction	−	+	+	+
CD3	Signal transduction element of T-cell receptor	−	+	+	−
CD4	Adhesion molecule that binds to class II MHC molecules; signal transduction	−	+ (usually)	− (usually)	−
CD5	Unknown (subset)	−	−	+	+
CD8	Adhesion molecule that binds to class I MHC molecules; signal transduction	−	− (usually)	+ (usually)	+ (variable)
CD16 (FcγRIII)	Low-affinity receptor for Fc region of IgG	−	−	−	+
CD21 (CR2)	Receptor for complement (C3d) and Epstein-Barr virus	+	−	−	−
CD28	Receptor for costimulatory B7 molecule on antigen-presenting cells	−	+	+	−
CD32 (FcγRII)	Receptor for Fc region of IgG	+	−	−	−
CD35 (CR1)	Receptor for complement (C3b)	+	−	−	−
CD40	Signal transduction	+	−	−	−
CD45	Signal transduction	+	+	+	+
CD56	Adhesion molecule	−	−	−	+

*Synonyms are shown in parentheses.

- لنفوسیت‌های B

لنفوسیت‌های B با عنوان سلول‌های B نیز شناخته می‌شوند و حرف B برگرفته از بورسافابرسیوس (مکان بلوغ این سلول‌ها در پرندگان) می‌باشد؛ همچنین حرف B برای مغز استخوان نیز مناسب می‌باشد. سلول‌های B بالغ به واسطه حضور آنتی‌بادی‌های غشایی (پذیرنده آنتی‌ژنی سلول B) از سایر لنفوسیت‌ها متمایز می‌شوند. تمام مولکول‌های آنتی‌بادی روی سطح غشای یک سلول B (تقریباً $۱/۵\times۱۰^{۵}$) حاوی جایگاه اتصال به یک آنتی‌ژن خاص می‌باشند. وقتی یک سلول B دست نخورده برای اولین بار با آنتی‌ژن برخورد کند، سلول به سرعت تقسیم می‌شود. نوادگان آنها به سلول‌های اجرایی[1] با نام پلاسماسل‌ها[2] و

1-effector cells
2-Plasma cells

www.bbooks.ir

همچنین سلول‌های B خاطره‌ای تمایز می‌یابند. پلاسماسل‌ها آنتی‌بادی را بـه شـکل ترشـحی تولید کرده و آنتی‌بادی غشایی بسیار کم یا اصلاً ندارند. پلاسماسـل‌هـا سـلول‌هـای مراحـل پایانی بوده و تقسیم نمی‌شوند. آنها برای تولید آنتی‌بادی تخصص یافته‌اند و برآورد می‌شـود که یک پلاسماسل به تنهایی قادر به ترشح ۱۰۰ تا بـیش از ۱۰۰۰ مولکـول آنتـی‌بـادی در ثانیه باشد.

- لنفوسیت‌های T

واژه لنفوسیت T برگرفته از جایگاه بلوغ این سلول‌ها در تیموس می‌باشد. در طی بلوغ آنها در تیموس، سلول‌های T مولکول غشایی متصل شونده به آنتی‌ژن به نام **پذیرنده سـلول** T[1] را عرضه می‌کنند. بر خلاف آنتی‌بادی‌های غشایی سلول B که آنتی‌ژن را به تنهایی شناسایی می‌کنند، TCRها تنها آنتی‌ژن متصل بـه MHC را شناسـایی مـی‌کننـد. دو نـوع اصـلی از مولکول‌های MHC وجـود دارنـد؛ مولکـول‌هـای MHC کـلاس I کـه تقریبـاً توسـط تمـام سلول‌های هسته‌دار مهره‌داران بیان می‌شوند و مولکول‌های MHC کلاس II که توسط شمار اندکی از سلول‌های تخصصی یافته عرضه می‌شوند.

دو نوع زیر جمعیت شناخته شده از سلول‌های T شامل T_H و T_C مـی‌باشـند. بـه تـازگی جمعیت سومی از سلول‌های T به نـام سـلول‌هـای T تنظیمـی (Treg) شناسـایی شـده‌انـد. سلول‌های T_H و T_C به واسـطه حضـور گلیکـوپروتئین‌هـای غشـایی CD4 و CD8 از سـایر سلول‌های متمایز می‌شوند. سلول‌های T_H مولکول CD4 وسـلول‌هـای T_C مولکـول CD8 را عرضه می‌کنند .نسبت CD4 به CD8 در خون محیطی افراد طبیعی تقریباً ۲ به ۱ می‌باشـد، اما در بیماری‌های نقص ایمنی، خود ایمنی و سایر ناهنجاری‌ها ایـن نسـبت تغییـر مـی‌کنـد. شناخت مجموعه آنتی‌ژن – MHC توسط سلول‌های Tc منجر بـه تکثیـر و تمـایز آنهـا بـه سلول‌های اجرایی با نام CTL و یا سلول‌های خاطره‌ای می‌شود. CTLهـا عملکـرد اسـای در

1-Tcell receptor

www.bbooks.ir

پایش سلول‌های بدن و حذف سلول‌هایی که آنتی‌ژن خارجی را همراه MCH-I عرضه می‌کنند، دارند.

سلول‌های Treg با حضور هر دو مولکول CD4 و CD25 بر سطح غشای خود مشخص می‌شوند. با این حال، برخلاف سلول‌های T_H حامل CD4، این سلول‌ها پاسخ‌های ایمنی را مهار کرده و اثر تنظیمی منفی بر سیستم ایمنی دارند. مشابه سلول‌های T_H و T_C، اعضای زیر جمعیت Treg هم می‌توانند پیش‌ساز سلول‌های خاطره‌ای باشند.

- جمعیت‌های سلول B و T شامل زیر جمعیتی از کلون‌ها می‌باشند

تمام پذیرنده‌های آنتی‌ژن یک نوع سلول B یا T، ساختار مشابهی دارند و بنابراین ویژگی یکسانی برای یک آنتی‌ژن دارند. اگر یک نوع لنفوسیت به دو سلول دختری تقسیم شود، هر دو سلول دختری پذیرنده‌هایی با ویژگی آنتی‌ژنی یکسان و مشابه با سلول والد را عرضه می‌کنند و بنابراین، نوادگان این سلول‌های دختری نیز همان پذیرنده‌های آنتی‌ژنی را عرضه می‌کنند. به این جمعیت لنفوسیتی، یک کلون[1] می‌گویند. در یک زمان معین، در یک انسان یا موش، دهها هزار کلون مختلف سلول B و T حضور دارند و هر کلون با پذیرنده‌های آنتی‌ژنی مشابه و مخصوص به خود از دیگران متمایز می‌گردد. برخورد با آنتی‌ژن موجب تکثیر و تمایز این سلول‌ها می‌گردد. سلول‌های اجرایی دارای عملکردهای اختصاصی می‌باشند، در حالی که سلول‌های خاطره‌ای درمیزبان باقی می‌مانند و در مواجهه مجدد با همان آنتی‌ژن، پاسخ سریع‌تر و شدیدتری ایجاد می‌کنند.

- سلول‌های کشنده طبیعی (NK)

بدن انسان حاوی جمعیت اندکی از سلول‌های بزرگ و گرانولار با نام سلول‌های کشنده طبیعی می‌باشد که فعالیت سایتوتوکسیک علیه طیف وسیعی از سلول‌های تومروی و

1-clone

www.bbooks.ir

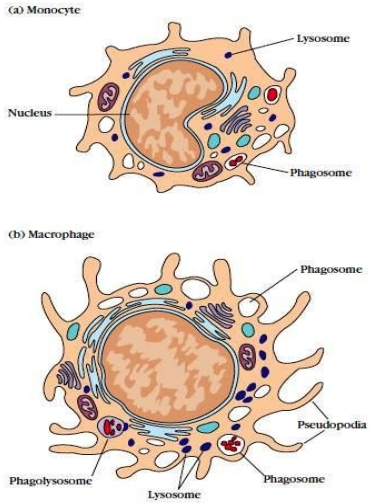
سلول‌های آلوده به ویروس از خود نشان می‌دهند. یکی از جنبه‌های استثنایی این سلول‌ها که ۱۰-۵٪ لنفوسیت‌های خون محیطی را تشکیل می‌دهند، توانایی شناخت سلول‌های توموری و آلوده به ویروس، علیرغم فقدان پذیرنده‌های ویژه آنتی‌ژن می‌باشد. **سلول‌های NK** بخشی از سیستم ایمنی ذاتی بوده و اکثر آنها فاقد ایمونوگلوبولین غشایی یا TCR می‌باشند. برخی از سلول‌های توموری و سلول‌های آلوده به ویروس، آنتی‌ژن‌هایی را عرضه می‌کنند که سیستم ایمنی علیه آنها آنتی‌بادی می‌سازد، بنابراین این آنتی‌بادی‌ها به سطح سلول‌های هدف متصل می‌شوند و بدلیل این که سلول‌های NK مولکول CD16 (پذیرنده ناحیه‌ای ازمولکول آنتی‌بادی) را عرضه می‌کنند، با اتصال به آنها موجب تخریب سلول پوشیده شده از آنتی‌بادی می‌گردند.

اخیراً یک نوع سلول دیگر با هردو خصوصیت سلول‌های T و NK به نام **سلول NKT** شناسایی شده است. این سلول‌ها همانند سلول T حاوی TCR می‌باشند ولی برخلاف سلول‌های TCR،T سلول‌های NKT با مولکول‌های شبه MHC به نام CD1 واکنش می‌دهند. آنها همانند سلول‌های NKمقادیر متغیری از CD16 و سایر پذیرنده‌های معمول سلول‌های NK را عرضه می‌کنند و می‌توانند سلول‌های هدف را از بین ببرند.

- فاگوسیت‌های تک هسته‌ای

سیستم فاگوسیت‌های تک هسته‌ای شامل منوسیت‌های درگردش و ماکروفاژهای بافتی می‌باشد (شکل ۷-۲).

www.bbooks.ir



شکل ۷-۲: مورفولوژی شماتیک منوسیت (a) و ماکروفاژ (b).

در طی خونسازی، در مغز استخوان سلول‌های پیش‌ساز گرانولوسیت – منوسیت به سلول‌های پرومنوسیت تمایز می‌یابند که مغز استخوان را ترک کرده و وارد خون می‌شوند و در آنجا با تمایز بیشتر به منوسیت‌های بالغ تبدیل می‌شوند. منوسیت‌ها حدود ۸ ساعت در جریان خون باقی مانده و سپس به بافت‌ها مهاجرت کرده و به ماکروفاژهای اختصاصی بافت تمایز می‌یابند.

تمایز منوسیت‌ها به ماکروفاژهای بافتی طی تغییرات زیر صورت می‌گیرد. سلول ۵ تا ۱۰ برابر بزرگ‌تر می‌شود، گرانول‌های داخل سلولی از نظر تعداد وپیچیدگی بیشتر می‌شوند و توانایی فاگوستیوز بالایی پیدا می‌کنند، میزان تولید آنزیم‌های هیدرولتیک آنها افزایش یافته و شروع به ترشح انواع مختلفی از عوامل محلول می‌کنند.

برخی از ماکروفاژها در بافت‌های خاص ساکن می‌شوند وبرخی دیگر متغیر می‌باشند. ماکروفاژهای آزاد با حرکات آمیبی به سرتاسر بافت‌ها حرکت می‌کنند. سلول‌های شبه ماکروفاژ براساس نوع بافتی که در آن حضور دارند نام گذاری می‌شوند:

www.bbooks.ir

- ماکروفاژهای گوارشی[1] در روده
- ماکروفاژهای آلوئولار[2] در ریه
- هیستوسیت‌ها[3] در بافت‌های پیوندی
- سلول‌های کوپفر[4] درکبد
- سلول‌های مزانشیال[5] در کلیه
- سلول‌های میکروگلیال[6] درمغز
- استئوکلاست‌ها[7] در مغز استخوان

ماکروفاژهای فعال شده، در از بین بردن پاتوژن‌ها به چند دلیل کارآمدتر می‌باشند. آنها فعالیت فاگوسیتوز بیشتری داشته، توانایی بیشتری در کشتن میکرب‌های بلعیده شده دارند، ترشح واسطه‌های التهابی و توانایی فعال‌سازی سلول‌های T نیز در آنها افزایش یافته است. به علاوه، ماکروفاژهای فعال شده پروتئین های سایتوتوکسیک مختلفی را ترشح می‌کنند که آنها را در از بین بردن طیف وسیعی از اهداف حمایت می‌کنند.

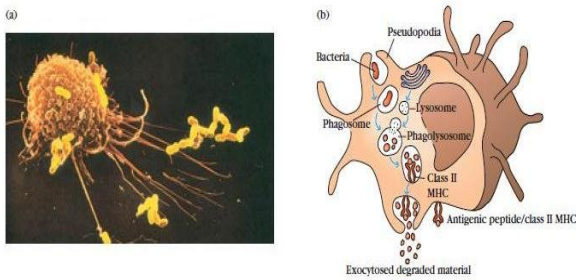
- فاگوسیتوز، با هضم و عرضه آنتی‌ژن دنبال می‌شود

ماکروفاژها قادر به بلع و هضم آنتی‌ژن‌های خارجی و مواد با منشأ داخلی می‌باشند. فاگوستوز با اتصال آنتی‌ژن به غشای سلول ماکروفاژ آغاز می‌شود. آنتی‌ژن‌های پیچیده مثل سلول‌های کامل باکتریایی یا ذرات ویروسی، تمایل زیادی به اتصال دارند و به سرعت فاگوسیتوز می‌شوند. قطعات پروتئینی و باکتری‌های کپسول‌دار تمایل کمتری به اتصال داشته

1-intestinal macrophage
2-alveolar macrophage
3-histocytes
4-kupffer cells
5- mesangial cells
6- microglial cells
7- osteoclusts

www.bbooks.ir

و به سختی فاگوسیتوز می‌شوند. اتصال سبب به وجود آمدن برآمدگی‌هایی در غشا (به نـام پای کاذب[1]) شده و دور تا دور مادهٔ اتصال یافته را فرا می‌گیرد (شکل ۸-۲). پاهای کـاذب اطراف ماده آن را داخل ساختاری متصل به غشا به نام فاگوزوم[2] احاطه می‌کننـد و سـپس وارد مسیر پردازش داخل سلولی می‌گردانند (شکل ۸-۲).



شکل ۸-۲: ماکروفاژ می تواند آنتی ژن های ذره ای را هضم و تخریب نماید.

در این مسیر، فاگوزوم به سمت داخل سلول حرکت کرده و به یک لیزوزوم[3] ملحق شده و و فاگولیزوزوم[4] را تشکیل می‌دهـد. لیـزوزوم‌هـا دارای آنـزیم هـای هیـدرولیتیک متنـوعی می‌باشند که ذرات بلعیده شده را هضم می‌کنند. سپس محتوای هضم شـده فـاگولیزوزوم‌هـا طی روندی با نام اگزوستیوز، دفع می‌شوند.

هر چند که اغلب آنتی‌ژن‌های بلعیده شده توسط ماکروفاژها تجزیه و دفع می‌شـوند، ولـی حضور پپتیدهای آنتی‌ژنی بر روی غشای ماکروفاژ بـا اسـتفاده از آنتـی‌ژن بلیعـده شـده در مسیرپردازش داخل سلولی به پپتیدهایی تجزیه می‌شود که با مولکول‌هـای MHC-II همـراه می‌گردند. سپس این مجموعه‌ها به سطح غشای ماکروفاژ منتقل می‌گردند. ایـن پـردازش و

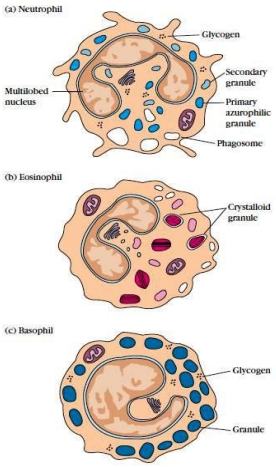
1-pesudopodia
2-phagosome
3- lysosome
4- phagolysosome

www.bbooks.ir

عرضه آنتی‌ژن برای فعال‌سازی سلول T_H ضروی می‌باشد. در نهایت، ماکروفاژهای فعال شده، پروتئین‌های تنظیمی لازم برای توسعه پاسخ‌های ایمنی را ترشح می‌کنند.

- گرانولوسیت‌ها

گرانولوسیت‌ها را براساس مورفولوژی سلولی و ویژگی‌های رنگ‌آمیزی سیتوپلاسم به نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و بازوفیل‌ها تقسیم‌بندی می‌کنند (شکل ۹-۲).



شکل ۹-۲: تصویری شماتیک از سه گرانولوسیت.

نوتروفیل دارای هستهٔ چند قسمتی و سیتوپلاسم گرانولار می‌باشد که با رنگ‌های اسیدی و بازی رنگ می‌گیرد و اغلب به خاطر وجود هسته چند قسمتی، لکوسیت پلی مورفونوکلئار (PMN) نامیده می‌گردد. ائوزینوفیل‌ها دارای هسته دو قسمتی و سیتوپلاسم گرانولار بوده که با رنگ قرمز ائوزین رنگ‌آمیزی می‌شوند. بازوفیل هسته تک قسمتی و سیتوپلاسم گرانولار داشته و با رنگ بازی متیلن بلو رنگ‌آمیزی می‌شود.

www.bbooks.ir

- نوتروفیل‌ها

نوتروفیل‌ها طی خونسازی در مغز استخوان تولید می‌شوند. در پاسخ به انـواع بسـیاری از عفونت‌ها، مغز استخوان نسبت به حالت معمول، نوتروفیل‌های بیشتری را رها می‌کنـد و بـه طور کلی این سلول‌ها اولین سلول‌هایی می‌باشند که به جایگاه التهاب مـی‌رسـند. در نتیجـه، تعداد نوتروفیل‌های در حال گردش افزایش می‌یابد و از نظر بالینی به عنوان شاخصی جهت تشخیص عفونت، مورد استفاده قرار می‌گیرد.

حرکت نوتروفیل‌های در حال گردش به داخل بافت‌هـا، **خـروج از رگ**[1] نامیـده شـده و شامل چندین مرحله می‌باشد: در ابتدا سلول به اندوتلیوم عـروق متصـل شـده وسـپس بـه فضای بین سلول‌ها نفوذ می‌کند و در نهایت وارد غشای پایه عروقـی مـی‌گـردد. شـماری از مواد تولید شده در واکنش‌های التهابی به عنوان عوامل جاذب شـیمیایی[2] عمـل مـی‌کننـد و موجب تجمع نوتروفیل‌ها در جایگاه التهاب می‌گردند.

نوتروفیل‌ها نیز همانند ماکروفاژها بیگانه‌خوار می‌باشـند. فاگوسـیتوز توسـط نوتروفیـل‌هـا مشابه آن چیزی است که برای ماکروفاژها توضیح داده شد، به استثنای این که آنـزیم‌هـای لیتیک و مواد باکتری‌کش در نوتروفیل‌ها، داخل گرانول‌های اولیه وثانویه وجود دارند (شـکل ۹-۲). گرانول‌های بزرگ و متراکم اولیه یک نوع لیزوزوم می‌باشند کـه حـاوی پراکسـیداز، لیزوزیم و آنزیم‌های هیدرولیتیک مختلف هستند گرانول‌های کوچک‌تر ثانویه حاوی کلاژناز، لاکتوفرین و لیزوزیم می‌باشند. هر دو نوع گرانـول‌هـای اولیـه و ثانویـه بـا فـاگوزوم الحـاق می‌شوند و سپس محتویات فاگوزوم هضم و دفع می‌گردد.

1- extravasation
2- chemoattractant factors

www.bbooks.ir

- ائوزینوفیل‌ها

ائوزینوفیل‌ها همانند نوتروفیل‌ها سلول‌های فاگوسیت متحرک می‌باشند (شکل ۹-۲) که می‌توانند از خون به داخل فضاهای بافتی مهاجرت کنند. این سلول‌ها با ترشح محتویات گرانول‌های ائوزینوفیلیک خود که می‌تواند غشای انگل‌ها را تخریب کند، نقش دفاعی علیه ارگانیسم‌های انگلی دارند.

- بازوفیل‌ها

بازوفیل‌ها گرانولوسیت‌های غیر بیگانه‌خواری می‌باشند که طی خونسازی تولید شده و با رهاسازی مواد فعال از لحاظ فارماکولوژیک از گرانول‌های سیتوپلاسمی خود، عملکرد خود را انجام می‌دهند. این مواد نقش اساسی در واکنش‌های آلرژیک ایفا می‌کنند.

- ماست‌سل‌ها

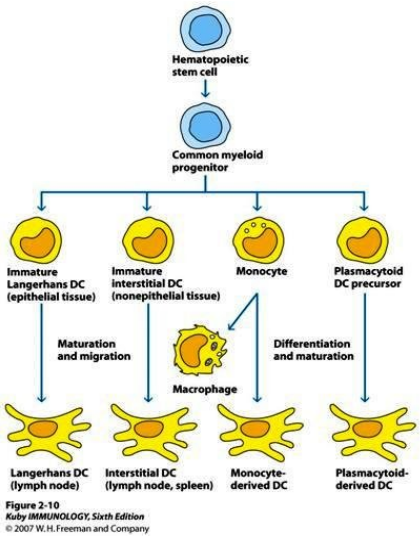
پیش‌سازهای ماست‌سل‌ها که طی خونسازی در مغز استخوان تولید می‌شوند، به صورت سلول‌های تمایز نیافته وارد گردش خون می‌شوند. آنها زمانی که خون را ترک کرده و وارد بافت‌ها می‌شوند، تمایز می‌یابند. ماست‌سل‌ها را می‌توان در طیف وسیعی از بافت‌ها مثل پوست، بافت همبند اعضای مختلف و اپی تلیال مجاری تنفسی، تناسلی و گوارشی یافت. این سلول‌ها همانند بازوفیل‌های در حال گردش، حاوی مقادیر بالایی از گرانول‌های سیتوپلاسمی حاوی هیستامین و سایر مواد فعال می‌باشند و نقش مهمی در ایجاد آلرژی‌ها برعهده دارند.

www.bbooks.ir

- سلول‌های دندریتیک

سلول‌هـای دنـدریتیک[1] در سـال ۱۸۶۸ در طـی بررسـی آنـاتومی پوسـت توسـط پـاول لانگرهانس[2] شناسایی شدند. نام‌گذاری این سلول‌ها بدلیل حضور امتدادهای طویـل غشـایی مشابه دندریتیک‌های سلول‌های عصبی می‌باشد. انواع مختلفی از سلول‌های دندریتیک وجود دارند و حداقل چهار رده از آنها شناسایی شده است:

سلول‌های دندریتیک لانگرهانس، سلول‌های دندریتیک میان بافتی، سلول‌هـای دنـدریتیک مشتق از منوسیت و سلول‌های دندریتیک پلاسماسایتوئید. هر کدام از این انواع از سلول‌های بنیادی خونساز طی مسیرهای مختلف و در جایگاههای متفاوت به وجود می‌آیند (شکل ۱۰-۲).



شکل ۱۰-۲: تمایز انواع سلول های دندریتیک و منشأ آنها

1- dendritic cells
2- Paul Langerhance

www.bbooks.ir

سلول‌های دندریتیک لانگرهانس در لایه‌های اپیدرم پوست و سلول‌های دندریتیک میان بافتی در فضاهای بین بافتی تمام اعضا به جز مغز حضور دارند. سلول‌های دندریتیک مشتق از منوسیت، از منوسیت‌های در گردش که به بافت‌ها مهاجرت کرده‌اند، به وجود می‌آیند و سلول‌های دندریتیک پلاسماسایتوئید از سلول‌های پلاسماسایتوئید ایجاد می شوند که نقش اصلی آنها در ایمنی ذاتی و عرضه آنتی‌ژن می‌باشد. تمامی سلول‌های دندریتیک، مولکول‌های MHC کلاس I و II و همچنین مولکول‌های کمک تحریکی CD80 و CD86 را عرضه می‌کنند. سلول‌های دندریتیک حاوی CD40 نیز می‌باشند که با اتصال به لیگاند خود روی سلول T، رفتار آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

در طول فرآیند بلوغ، ظاهر دندریتیک‌ها از شکل پذیرنده آنتی‌ژن به شکل عرضه کننده آنتی‌ژن به سلول‌های T تغییر می‌یابد. با عبور از این مرحله، برخی خصوصیات جدید ظاهر می‌شوند خصوصیاتی مثل توانایی بیگانه خواری و مقادیر بالای پینوسیتوز را از دست می‌دهند و در عوض عرضه مولکول‌های MHC-II و مولکول‌های کمک تحریکی را افزایش می‌دهند. سلول‌های دندریتیک طی بلوغ، بافت‌هایی که در آنجا اقامت دارند را ترک کرده و وارد گردش خون یا لنف شده و به اعضای لنفاوی مهاجرت می‌کنند و آنتی‌ژن را عرضه می‌نمایند.

- سلول‌های دندریتیک فولیکولی

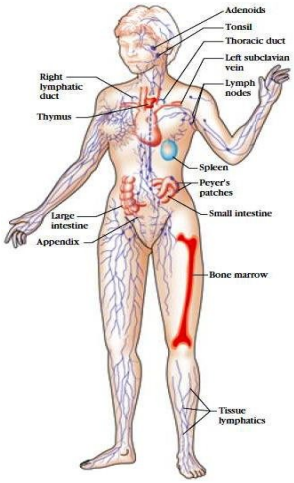
این سلول ها از مغز استخوان مشتق نمی‌شوند و عملکرد آنها به طور کامل با سلول‌های دندریتیک متفاوت می‌باشد. سلول‌های دندریتیک فولیکولی مولکول‌های MHC-II را عرضه نمی‌کنند و در نتیجه به عنوان سلول‌های APC نقش ندارند. این سلول‌ها به دلیل مکان منحصر به فرد خود در ساختارهای سازمان یافته غدد لنفاوی به نام فولیکول لنفاوی نام‌گذاری شده‌اند. هر چند که این سلول‌ها MHC-II را عرضه نمی‌کنند ولی به میزان فراوانی پذیرنده‌های غشایی آنتی‌بادی را عرضه می‌کنند که به آنها این امکان را می‌دهد تا با

www.bbooks.ir

مجموعه‌های آنتی‌ژن – آنتی‌بادی اتصال یابند. واکنش بین سلول های B و سلول‌های دندریتیک فولیکولی یکی ار مراحل مهم بلوغ و تنوع سلول‌های B می‌باشد.

- اندام‌های سیستم ایمنی

شماری از اندام‌ها و بافت‌های مختلف در ایجاد پاسخ ایمنی شرکت می‌کنند (شکل ۱۱-۲).



شکل ۱۱-۲: سیستم لنفاوی انسان. اعضای لنفاوی اولیه (مغز استخوان و تیموس) و ثانویه.

این اعضا را می‌توان بر اساس عملکرد به اندام‌های لنفاوی اولیه و ثانویه[1] تقسیم‌بندی کرد. تیموس و مغز استخوان اعضای لنفاوی اولیه یا مرکزی بوده و بلوغ لنفوسیت‌ها در آنها صورت می‌گیرد. اعضای لنفاوی ثانویه یا محیطی شامل غدد لنفاوی، بافت لنفاوی مرتبط با مخاط (MALT) و طحال می‌باشند.

1- primary and secondary lymphoid organs

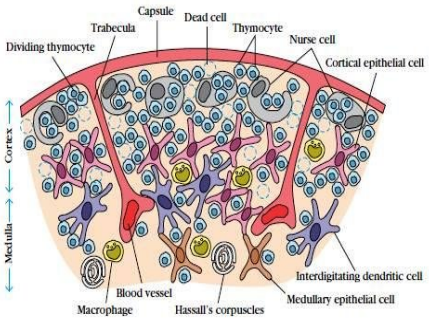
www.bbooks.ir

- اعضای لنفاوی اولیه

لنفوسیت‌های نابالغ تولید شده طی خونسازی، در اعضای لنفاوی اولیه بالغ شده و متعهد به یک ویژگی آنتی‌ژنی خاص می‌شوند. تنها پس از بلوغ لنفوسیت در اعضای لنفاوی اولیه، یک سلول دارای صلاحیت ایمنی۱ می‌باشد. سلول‌های T از مغز استخوان مشتق شده و در تیموس۲ تکوین می‌یابند. در بسیاری از پستانداران، سلول‌های B از مغز استخوان۳ مشتق شده و همان جا نیز تکوین می‌یابند.

- تیموس

تیموس اندامی تخت و دولبه می‌باشد که در بالای قلب قرار دارد. هر لوب توسط کپسولی احاطه شده و به لوبول‌هایی تقسیم می‌شود، لوبول‌ها توسط رشته‌هایی از بافت پیوندی با نام ترابکولا از یکدیگر جدا می‌شوند (شکل ۱۲-۲).



شکل ۱۲-۲: تصویر بخش های تیموس، چندین لوبول توسط بافت پیوندی از یکدیگر جدا شده اند.

1- immunocompetent
2- thymus
3- bone marrow

www.bbooks.ir

هر لوبول از دو بخش مجزا تشکیل شده است: بخش خارجی (کورتکس۱)حاوی تراکم بالایی از سلول‌های T نابالغ یا تیموسیت‌ها می‌باشد، در صورتی که بخش داخل (مدولا۲) حاوی جمعیت اندکی از تیموسیت‌ها می‌باشد.

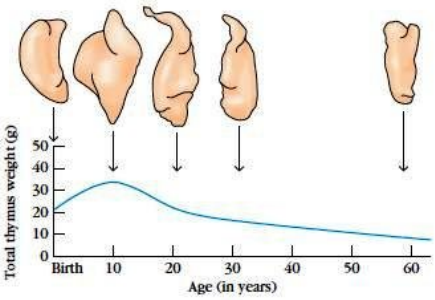
هر دو بخش کورتکس و مدولای تیموس، توسط شبکه‌ای از سلول‌های استرومایی احاطه شده که داربست این عضو را ساخته و در رشد و بلوغ تیموسیت‌ها شرکت دارد. عملکرد تیموس، تولید و گزینش گنجینه‌ای از سلول‌های T می‌باشد که بدن را در برابر عفونت‌ها محافظت خواهند کرد. در طی تکوین تیموسیت‌ها، گنجینه بسیار متنوعی از TCRها ایجاد می‌شود، که برخی از سلول‌های T تولید شده، پذیرنده‌هایی را حمل می‌کنند که قادر به شناسایی مجموعه آنتی‌ژن – MHC می‌باشند. بیش از ۹۵ درصد تیموسیت‌ها قبل از بلوغ، طی آپوپتوز می‌میرند.

نقش تیموس را در عملکرد ایمنی می‌توان بوسیله خارج کردن تیموس جنینی موش‌ها بررسی نمود. این موش‌های فاقد تیموس، کاهش قابل ملاحظه‌ای را در سلول‌های T خود نشان می‌دهند و فاقد ایمنی سلولی می‌باشند. شواهد دیگری که حاکی از اهمیت تیموس می‌باشند از بررسی نقص مادرزادی انسانی به نام سندرم دی‌جرج[3] و موش‌های برهنه (nude) بدست آمده‌اند. در هر دوی این موارد، تیموس تکوین نمی‌یابد و سلول‌های Tوجود ندارند و به دلیل فقدان ایمنی سلولی، ابتلا به بیماری‌های عفونی افزایش می‌یابد.

عملکرد تیموس، به طور چشمگیری با افزایش سن کاهش می‌یابد. تیموس در هنگام بلوغ به حداکثر اندازه خود می‌رسد و سپس با کاهش مشخصی در هر دو منطقه کورتکس و مدولا و افزایش حجم کل چربی عضو، تحلیل می‌رود. اگر چه میانگین وزن تیموس در نوزاد انسان ۳۰ گرم می‌باشد، انحطاطی وابسته به سن، از آن اندامی با میانگین وزن تنها ۳ گرم در افراد پیر برجا می‌گذارد(شکل ۱۳-۲).

1- cortex
2- medulla
3- DiGeorge's syndrome

www.bbooks.ir



شکل ۱۳-۲: تغییر تیموس در طی سنین مختلف.

این کاهش توده وابسته به سن با کاهش برون‌ده سلول‌های T همراه می‌باشد. تولید سلول‌های T در سن ۳۵ سالگی به میزان ۲۰ درصد و در ۶۵ سالگی به میزان ۲ درصد تولید سلول‌های T در نوزادان کاهش می‌یابد.

- مغز استخوان

مغز استخوان در موش و انسان، محل تکوین سلول‌های B می‌باشد. سلول‌های B نابالغ در مغز استخوان تکثیر و تمایز یافته و سلول‌های استرومایی مغز استخوان به طور مستقیم با لنفوسیت‌های B میانکنش داشته و سایتوکاین‌های مورد نیاز برای تمایز سلول‌های B را ترشح می‌کنند. سلول‌های B مغز استخوان، منشاء حدود ۹۰ درصد ایمونوگلبولین‌های IgG و IgA پلاسما می‌باشند. علیرغم نقش اساسی مغز استخوان در انسان و موش، مغز استخوان در تمامی گونه‌ها محل تکوین سلول‌های B نمی‌باشد. در پرندگان بورسافابرسیوس محل اصلی بلوغ سلول‌های B می‌باشد. در پستاندارانی مانند پریمات‌ها و جوندگان، بورسا وجود ندارد. در گاو و گوسفند، بافت اصلی لنفاوی که جایگاه بلوغ، تکثیر و تنوع سلول‌های B می‌باشد، در مراحل اولیه حاملگی، طحال جنین بوده و در مراحل آخر حاملگی، پلاک‌های بافتی دیواره روده با نام پلاک‌های پیر[1] ایلئوم این عملکرد را به عهده می‌گیرند. خرگوش نیز

1- peyer's patches

www.bbooks.ir

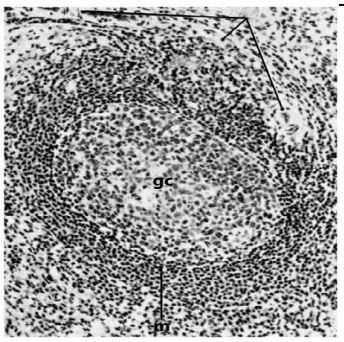
از بافت‌های لنفاوی مرتبط با لوله گوارش (به خصوص آپاندیس) به عنوان اعضای لنفاوی اولیه استفاده می‌کند.

- اعضای لنفاوی ثانویه

انواع مختلفی از بافت‌های لنفاوی سازمان یافته در مسیر عروق لنفاوی قرار می‌گیرند. برخی بافت‌های لنفاوی در ریه و لامیناپروپیای دستگاه گوارش از تجمع پراکنده‌ای از لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها تشکیل می‌شوند. سایر بافت‌های لنفوئیدی درساختارهایی با نام فولیکول‌های لنفاوی سازماندهی می‌شوند. این فولیکول‌ها مجموعه‌ای از سلول‌های لنفاوی و غیرلنفاوی می‌باشند که توسط شبکه‌ای از مویرگ‌های لنفاوی تخلیه کننده احاطه شده‌اند. قبل از این که فولیکول لنفاوی توسط آنتی‌ژن فعال شود، شامل شبکه‌ای از سلول‌های دندریتیک فولیکولی و سلول‌های B کوچک در حال استراحت می‌باشد. پس از مواجهه با آنتی‌ژن، فولیکول اولیه[1] به فولیکول ثانویه[2] بزرگ‌تر تبدیل می‌شود. فولیکول‌های ثانویه متشکل از حلقه‌های هم مرکز از سلول‌های B به هم فشرده می‌باشند که اطراف یک مرکز با نام مرکز زایا[3] را احاطه کرده‌اند (شکل ۱۵-۲).

1- primary follicle
2- secondary follicle
3- germinal center

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۲: فولیکول لنفاوی ثاویه حاوی یک مرکز زایا (gc) می باشد که بوسیله لنفوسیت های کوچک (m) احاطه شده است.

غدد لنفاوی۱ و طحال۲ سازمان یافته‌ترین اعضای لنفاوی ثانویه می‌باشند، آنها علاوه بر فولیکول‌های لنفاوی، حاوی نواحی مجزای فعالیت سلول B وT می‌باشند و توسط کپسول فیبری احاطه می‌شوند. بافت های لنفاوی کمتر سازمان یافته با نام بافت‌های لنفاوی مرتبط با مخاط۳ (MALT) شناخته می‌شوند و در مناطق مختلف بدن یافت می‌شوند. MALT شامل پلاک های پیر، لوزه‌ها، آپاندیس و فولیکول‌های لنفاوی فراوان داخل لامیناپروپیای روده و غشاهای مخاطی مجرای تنفسی، برونش‌ها و مجاری ادراری – تناسلی می‌باشند.

- غدد لنفاوی

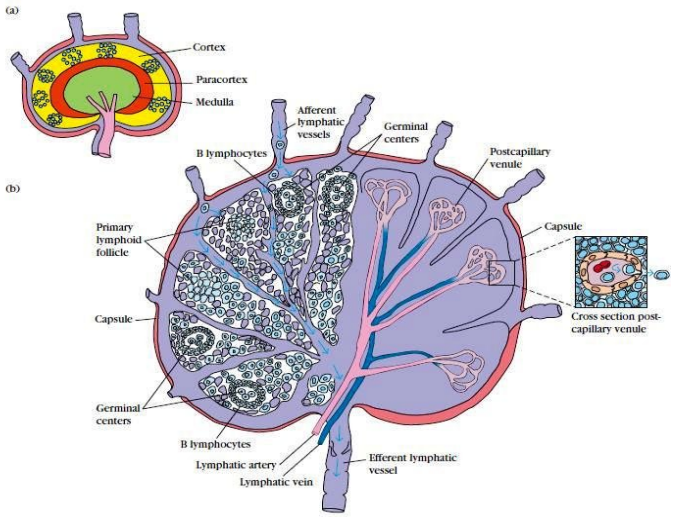
غدد لنفاوی ساختارهای لوبیایی شکل کپسول دار حاوی شبکه‌ای متراکم از لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک می‌باشند. غدد لنفاوی در محل اتصال عروق لنفاوی قرار گرفته‌اند و اولین ساختارهای لنفاوی سازمان یافته می‌باشند که آنتی‌ژن‌های وارد شده به فضاهای بافتی با آنها مواجه می‌شوند.

1- lymph nodes
2- spleen
3- mucosa associated lymphoid tissue

www.bbooks.ir

زمانی که لنف از میان غده عبور می‌کند، هر آنتی‌ژن ذره‌ای که همراه لنف آورده شده است توسط شبکه سلولی از بیگانه‌خوارها و سول‌های دندریتیک به دام خواهد افتاد. سرتاسر ساختمان غده لنفی به گونه‌ای می‌باشد که ریز محیط مناسبی را برای لنفوسیت‌ها فراهم می‌آورد تا به طور کارآمدی با آنتی‌ژن‌های بیگانه مواجه شده و پاسخ دهند.

از نظر مورفولوژیک، یک غده لنفی را می‌توان به سه ناحیه تقریباً هم مرکز تقسیم کرد: کورتکس، پاراکورتکس[1] و مدولا، (شکل ۱۶-۲).



شکل ۱۶-۲: ساختار یک گره لنفی (a) سه لایه مجزای گره لنفی، ریزمحیط های مختلفی را بوجود می آورند. (b) جایگاه لنفوسیت ها در مناطق مختلف گره لنفی.

کورتکس شامل لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها وسلول‌های دندریتیک فولیکولی می‌باشند که در فولیکول‌های اولیه سازماندهی شده‌اند .پس از برخورد با آنتی‌ژن، فولیکول‌های اولیه توسعه یافته و به فولیکول‌های ثانویه (حاوی مراکز زایا) تبدیل می‌شوند. در کودکان با نقص سلول‌های B، کورتکس فاقد فولیکول‌های اولیه و مراکز زایا می‌باشد. در زیر کورتکس

1- paracortex

www.bbooks.ir

پاراکورتکس قرار دارد کـه اکثـراً از سـلول‌هـای T تشـکیل شـده‌اسـت و همچنـین حـاوی سلوی‌های دندریتیک نیز می‌باشند. این سلول‌های دندریتیک مقادیر بـالایی از مولکـول‌هـای MHC-II را عرضه می‌کنند که برای عرضه آنتی‌ژن به سلول‌های TH ضروری مـی‌باشـند. مدولا از سلول‌های رده لنفوئیدی بسیار اندکی تشکیل شده و بسیاری از آنهایی کـه حضـور دارند نیز، پلاسماسل‌هایی می‌باشند که به طور فعال مولکول‌های آنتی‌بادی ترشح می‌کنند.

فعال‌سازی اولیه سلول‌های B در پاراکورتکس غنی از سلول T صورت می‌گیـرد. بـا فعـال شدن، سلول‌های B و TH کانون‌های کوچکی در حاشیه پاراکورتکس تشکیل می‌دهند. برخی از سلول‌های B داخل این کانون‌ها به پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی تمایز مـی‌یابنـد. این کانون‌ها طی ۴ تا ۶ روز پس از مواجهه با آنتی‌ژن، به حداکثر اندازه خود می‌رسند. طی ۴ تا ۷ روز پس از برخورد با آنتی‌ژن، تعداد اندکی از سلول‌های B و T_H بـه فولیکـول هـای اولیه کورتکس مهاجرت می‌کنند و در آنجـا، فولیکـول ثانویـه تشـکیل مـی‌شـود. برخـی از پلاسماسل‌های تولید شده در مرکز زایا، به نواحی مـدولای غـده لنفـاوی عزیمـت کـرده و بسیاری از آنها نیز به مغز استخوان مهاجرت می‌کنند.

عروق لنفاوی آوران در نواحی بی شماری به داخل کپسول غده لنفی نفوذ کرده و لنـف را به سینوس‌های زیر کپسولی تخلیه می‌کنند (شـکل ۱۶-۲). پـس از عفونـت یـا ورود سـایر آنتی‌ژن‌ها به بدن، لنف از طریق تنها یک رگ لنفاوی وابران، غده لنفـی را تـرک مـی‌کنـد. افزایش تعداد لنفوسیت‌ها در لنفی که غده را ترک می‌کند تا حد انـدکی مربـوط بـه تکثیـر لنفوسیت‌ها در داخل غده در پاسخ به آنتی‌ژن می‌باشد. اکثـر ایـن افـزایش بـه سـبب ورود لنفوسیت‌های خونی می‌باشد که از طریق دیوارهٔ و وریدچه‌های پس مویرگی به داخـل غـده مهاجرت می‌کنند. این وریدچه‌ها با سلول‌های اندوتلیال فربه و غیر معمول مفروش شده‌انـد که به آنها ظاهر ضخیمی مـی‌دهنـد و تحـت عنـوان **وریدچـه‌هـای بـا انـدوتلیوم بلنـد**[1]

1- high endothelial venules

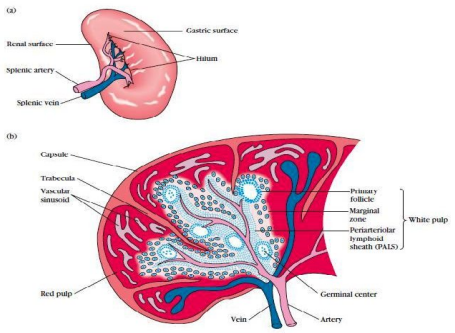
www.bbooks.ir

(HEV)خوانده می‌شوند. شکل ۱۶-۲ به اختصار عبور جریان لنف و لنفوسیت‌ها را از خلال یک غده لنفی نشان می‌دهد.

- طحال

طحال در بالا و سمت چپ حفره شکمی قرار گرفته است و اندام لنفاوی ثانویه بیضوی شکل و بزرگی می‌باشد که نقش عمده‌ای درایجاد پاسخ‌های ایمنی به آنتی‌ژن‌های درگردش خون برعهده دارد. بر خلاف غدد لنفی، طحال فاقد عروق لنفاوی می‌باشد. در عوض، آنتی‌ژن‌های با منشاء خونی و لنفوسیت‌ها از طریق شریان‌های طحالی به طحال آورده می‌شوند. لنفوسیت‌هایی که در طول روز از طحال عبور می‌کنند، بیش‌تر از میزان عبور لنفوسیت‌ها از مجموع تمام غدد لنفاوی می‌باشد.

طحال توسط کپسولی احاطه شده که به صورت برآمدگی‌هایی به داخل آن گسترش یافته و ساختارهای مجزایی را به وجود می‌آورد. این دو نوع ساختار (پالپ سفید۱ و پالپ قرمز۲) بوسیله نواحی حاشیه‌ای از یکدیگر جدا می‌شوند (شکل ۱۷-۲).



شکل ۱۷-۲: ساختار طحال. (a) طحال که در بالغین طولی حدود ۵ اینچ دارد، بزرگترین اندام لنفاوی ثانویه می باشد. (b) تصویر بخش های مختلف طحال.

1- white pulp
2- red pulp

www.bbooks.ir

پالپ قرمز طحال شامل شبکه‌ای از سینوس‌های متشکل از ماکروفاژها، گلبول‌های قرمز فراوان و تعداد اندکی لنفوسیت می‌باشد. در این جایگاه، سلول‌های قرمز ناقص و پیر، تخریب و برداشته می‌شوند. بسیاری از ماکروفاژهای پالپ قرمز حاوی گلبول‌های قرمز بلیعده شده یا رنگدانه‌های حاوی آهن می‌باشند. پالپ سفید طحال، انشعابات شریان طحالی را احاطه کرده و غلاف لنفوئیدی دور شریانچه‌ای۱ (PALS) که غنی از سلول‌های T می‌باشند را تشکیل می‌دهند. فولیکول‌های لنفاوی اولیه به PALS اتصال یافته‌اند. این فولیکول های لنفاوی غنی از سلول B بوده و برخی از آنها حاوی مراکز زایا می‌باشند.

فعال شدن اولیه سلول‌های B و T در نواحی غنی از T (PALS) صورت می‌گیرد. سلول‌های دندریتیک این نواحی آنتی‌ژن را به دام انداخته و همراه با MHC-II به سلول‌های T عرضه می‌کنند. این سلول‌های T پس از فعال‌شدن می‌توانند سلول‌های B را فعال کنند. سلول‌های B فعال شده همراه با برخی ازسلول‌های THبه فولیکول‌های اولیه در ناحیه حاشیه‌ای۲ مهاجرت می‌کنند. طی مواجهه با آنتی‌ژن، این فولیکول‌های اولیه به فولیکول‌های ثانویه تبدیل می‌شوند.

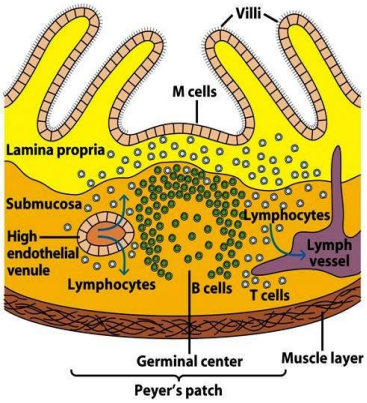
- بافت‌های لنفاوی مرتبط با مخاط

غشاهای مخاطی سیستم‌های گوارش، تنفس و تناسلی، در مجموع سطحی حدود ۴۰۰ متر مربع داشته و جایگاه عمده ورود اغلب پاتوژن‌ها می‌باشند. این غشاهای آسیب‌پذیر توسط گروهی از بافت‌های لنفاوی سازمان یافته با نام کلی MALT محافظت می‌شوند. بافت‌های لنفاوی مرتبط با اپی‌تلیال تنفسی تحت عنوان BALT۳ و آنهایی که مرتبط با سیستم گوارشی می‌باشند GALT ۴ خوانده می‌شوند. از لحاظ ساختاری، بافت‌های لنفاوی مرتبط با

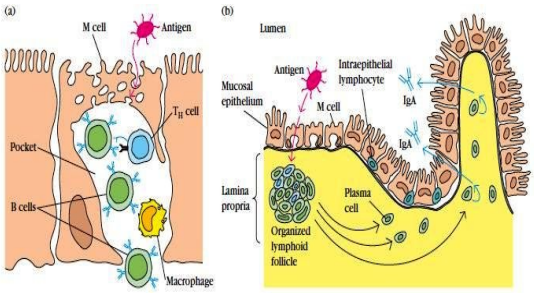
1- periarteriolar lymphoid sheath
2- marginal zone
3- bronchus associated lymphoid tissue
4- Gut associated lymphoid tissue

www.bbooks.ir

مخاط، طیف وسیعی از گروه کمتر تمایز یافته (لنفوسیت‌های موجود در لامنیاپروپریای گوارشی) تا ساختمانهای کاملاً تمایز یافته (پلاک‌های پیر) را شامل می‌شوند MALT همچنین شامل لوزه‌ها و آپاندیس‌نیز می‌شود.



شکل ۱۸-۲: تصویر بخش های مختلف غشا مخاطی مفروش کننده لوله گوارش که یک پلاک پیر زیر مخاطی را نشان می دهد.



شکل ۱۹-۲: ساختار سلول های M و تولید IgA. (a) سلول های M (b) آنتی ژن توسط سلول های M از خلال اپی تلیال عبور کرده و سبب تحریک سلول های B فولیکول های لنفاوی می شود.

همان‌گونه که در شکل ۱۸-۲ و ۱۹-۲ نشان داده شده است، سلول‌های لنفاوی در نواحی مختلف بافت‌ها یافت می‌شوند. خارجی‌ترین لایه اپی‌تلیال مخاط حاوی لنفوسیت‌های داخل اپی‌تلیالی[1] یا IELها می‌باشد که بسیاری از آنها سلول‌های T می‌باشند. لایهٔ لامیناپروپریا

1- intraepithelial lymphocytes

www.bbooks.ir

حاوی مقادیر بالایی از سلول‌های B، پلاسماسل‌ها، سلول‌های TH فعـال شـده ومجموعـه‌ای پراکنده از ماکروفاژها می‌باشد. سلول‌های اپی‌تلیال غشاهای مخاطی با رساندن آنتی‌ژن‌هـای خارجی از لومن مجاری تنفسی، گوارشی و تناسلی به MALT هـا نقـش مهـم واساسـی در افزایش پاسخ ایمنی دارند. این انتقال آنتی‌ژن توسط سـلول‌هـای تخصـص یافتـه‌ای بـه نـام سلول‌های M انجام می‌گیرد. آنها سلول‌های صاف فاقد میکروویلی می‌باشند و به این دلیل از سلول‌های اپی‌تلیال قابل تمایز می‌باشند. (شکل ۱۹-۲). آنتی‌ژن‌های موجود در لومن گوارشی به درون وزیکول‌های اندوستیوز شده و از غشای سمت لومنی به غشای پاکتی‌زیـرین منتقـل می‌شوند.

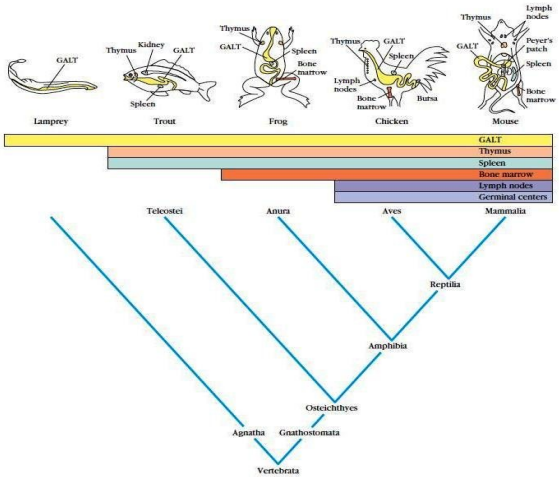
- بافت‌های لنفاوی مرتبط با پوست

پوست یکی از مهمترین سدهای آناتومیک در برابـر محـیط خـارجی مـی باشـد. پوسـت، بزرگترین اندام بدن بوده و نقش مهمی در دفاع‌های ذاتی برعهـده دارنـد. لایـه اپـی‌درمـی پوست، از شمار بسیاری سلول‌های اپی‌تلیال تخصص یافته با نام کراتینوسیت‌ها تشکیل شـده است. این سلول‌ها تعدادی سایتوکاین ترشح می‌کنند که می‌توانند سبب تولید واکنش التهابی موضعی گردند. سلول‌های پخش شده در میان زمینـه‌ای از سـلول‌هـای اپـی‌تلیـال پوسـت، سلول‌های لانگرهانس نامیده می‌شوند که نوعی از سلول‌های دندریتیک بوده کـه آنتـی‌ژن را به داخل خود کشیده و پس ازبلوغ، از اپی‌درم به غدد لنفاوی موضعی مهـاجرت کـرده و در آنجا به عنوان فعال کننده‌های پرقدرت سلول‌های THعمل می‌کنند. عـلاوه بـر سـلول‌هـای لانگرهانس اپی‌درم دارای لنفوسیت‌های داخـل اپـی‌درم نیـز مـی‌باشـد کـه بیشـتر آنهـا را لنفوسیت‌های T تشکیل می‌دهند. به نظر می‌رسد که اکثر سـلول‌هـای T موجـود در درم را سلول‌های از پیش‌فعال شده یا خاطره‌ای تشکیل دهند.

www.bbooks.ir

– مقایسه سلول‌ها و اعضای لنفاوی از لحاظ تکاملی

در فصل بعد خواهیم دید که سیستم ایمنی ذاتی در مهره‌داران، بی‌مهره‌ها و حتی گیاهـان یافت می‌شود. با این حال، ایمنی اکتسابی تنها در مهره‌داران دیده می‌شود. با این وجود، انواع بافت‌های لنفاوی موجود در راسته‌های مختلف مهره‌داران با یکـدیگر تفـاوت دارنـد (شـکل ۲۰-۲).



شکل ۲۰-۲: توزیع تکاملی بافت های لنفوئیدی. ظهور و موقعیت بافت های لنفوئیدی در چندین راسته از مهره داران نشان داده شده است.

با یک نگاه به طیفی از مهره‌داران اولیه (ماهی‌های بدون آرواره) تا پرندگان و پسـتانداران به خوبی آشکار است که تکامل سبب به وجود آمدن اعضای ایمنی جدید مثل غدد لنفـاوی و بافت‌هایی مثل پلاک‌های پیر شده است. ولی آنهایی را که در راسته‌هـای ابتـدایی تکامـل یافته‌اند را نیز (مثل تیموس) حفظ کرده است. اگرچه همه مهـره‌داران GALT را داشـته و اکثر آنها نیز برخی از اشکال طحال و تیموس را دارا می‌باشند، ولی تمام آنهـا غـدد لنفـی را ندارند و بسیاری از آنها نیز لنفوسیتی در مغز استخوان خود تولید نمی‌کنند. تنها مهره‌داران آرواره‌دار حاوی لنفوسیت‌های B، T و پاسخ‌های ایمنی اکتسابی می‌باشند.

www.bbooks.ir

- خلاصه

- پاسخ‌های هومورال و سلولی سیستم ایمنی، از فعالیت‌های هماهنگ تعداد زیادی از انواع سلول‌ها، اعضا و بافت‌های یافت شده در سرتاسر بدن ایجاد می‌شوند.
- بسیاری از سلول‌ها، بافت‌ها و اعضای بدن از تمایز جمعیت‌های مختلف سلول بنیادی ایجاد می‌شوند. لکوسیت‌ها از یک سلول بنیادی خونساز چند قوه در طول فرآیندی بسیار تنظیم شده با نام خونسازی ایجاد می‌گردند.
- آپوپتوزیس عامل اصلی در تنظیم میزان جمعیت سلول‌های خونی و جمعیت سایر سلول‌ها می‌باشد.
- سه نوع سلول لنفاوی وجوددارد: سلول‌های B، T و NK. تنها سلول‌های B و T اعضای جمعیت‌های کلونی می‌باشند که توسط پذیرنده‌های آنتی‌ژنی با ویژگی منحصر به فرد از یکدیگر متمایز می‌شوند. سلول‌های B، آنتی‌بادی‌های غشایی را تولید و عرضه می‌کنند و سلول‌های T پذیرنده‌های سلول T را تولید و عرضه می‌کنند. اکثر سلول‌های NK پذیرنده‌های ویژه آنتی‌ژن را تولید نمی‌کنند، هر چند که زیر جمعیتی کوچک از این گروه (سلول‌های NKT) TCR تولید وعرضه می‌کنند.
- ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها برای بیگانه‌خواری و پردازش آنتی‌ژن‌ها تخصص یافته‌اند. ماکروفاژها همچنین توانایی عرضه آنتی‌ژن به سلول‌های T را نیز دارند.
- اشکالی نابالغ سلول‌های دندریتیک، توانایی به دام انداختن آنتی‌ژن در یک محل، بالغ شدن و مهاجرت به محل دیگری را دارا می‌باشند و در آنجا آنتی‌ژن را به سلول‌های T_H عرضه می‌کنند. سلول‌های دندریتیک، جمعیت اصلی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن را تشکیل می‌دهند.
- اعضای لفناوی اولیه مکان‌هایی می‌باشند که لنفوسیت‌های B و T در آن تکوین می‌یابند و بالغ می‌شوند. سلول‌های T از مغز استخوان مشتق شده و در تیموس تکوین

www.bbooks.ir

می‌یابند. در انسان و موش، سلول‌های B از مغز استخوان مشتق شده و در همان جا نیز تکوین می‌یابند.

- اعضای لنفاوی ثانویه مکان‌هایی را فراهم می‌کنند که در آنجا لنفوسیت‌ها با آنتی‌ژن برخورد کرده، فعال و متحمل گسترش کلونی شده وبه سلول‌های اجرایی تمایز می‌یابند.
- راسته‌های مهره‌داران در نوع اعضای لنفاوی، بافت‌ها و سلول‌ها بسیار متفاوتند. ابتدایی‌ترین آنها (ماهی‌های بدون آرواره) فاقد سلول‌های B و T بوده و نمی‌توانند پاسخ‌های ایمنی اکتسابی را ایجاد کنند. مهره‌داران آرواره‌دار حاوی سلول‌های B و T (ایمنی اکتسابی) بوده و تنوع زیادی در بافت‌ها لنفاوی آنها مشاهده می‌شود.

- سئوالات درسی

۱- دلیل نادرستی هر یک از جملات زیر را بیان کنید.

الف) تمام سلول‌های T_H، CD4 را عرضه کرده و تنها آنتی‌ژن همراه با مولکول‌های MHC-II را شناسایی می‌کنند.

ب) سلول بینادی چند قوه یکی از فراوان ترین سلول‌های مغز استخوان می‌باشد.

پ) فعال شدن ماکروفاژ منجر به افزایش عرضه مولکول‌های MHC-I شده و این سلول‌ها را جهت عرضه آنتی‌ژن، کارآمدتر می‌کند.

ت) فولیکول‌های لنفاوی تنها در طحال و غدد لنفاوی حضور دارند.

ث) عفونت هیچ تأثیری روی سرعت خونسازی ندارد.

ج)سلول‌های دندریتیک فولیکولی می‌توانند آنتی‌ژن را پردازش و به سلول‌های Tعرضه کنند.

چ) تمام سلول‌های لنفاوی پذیرنده ویژه آنتی‌ژنی روی سطح غشای خود دارند.

www.bbooks.ir

ح) در تمام مهره‌داران، سلول‌های B در مغز استخوان تولید می‌شوند.

خ) تمام مهره‌داران، لنفوسیت‌های T یا B را تولید می‌کنند و اکثراً هر دو را تولید می‌کنند.

۲- برای هر گروه از سلول‌های زیر، آخرین پیش‌ساز مشترکی که این دو سلول از آن مشتق شده‌اند را مشخص کنید.

الف) سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها

ب) منوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها

پ) سلول‌های Tc و بازوفیل‌ها

ت)سلول‌های NK و سلول‌های B

۳- اعضای لنفاوی اولیه را نام برده و خلاصه‌ای از عملکرد آنها را در سیستم ایمنی بیان کنید.

۴- اعضای لنفاوی ثانویه را نام برده و خلاصه‌ای از عملکرد آنها را در سیستم ایمنی بیان کنید.

۵- دو جنبه متمایز سلول‌های بنیادی خونساز و سلول‌های پیش‌ساز چیست؟

۶- دو نقش اصلی تیموس چیست؟

۷- موش‌های برهنه و انسان‌های با سندرم دی‌جرج در چه مواردی با یکدیگر اشتراک دارند؟

۸- در چه سنی تیموس به حداکثر اندازه خود می‌رسد؟

الف) سال اول زندگی

ب) نوجوانی

پ) در فاصله بین ۴۰ تا ۵۰ سالگی

ت) بعد از ۷۰ سالگی

www.bbooks.ir

۹- نمونه‌های غنی شده از سلول‌های بنیادی خونساز، برای تحقیقات و بررسی‌های بالینی بسیار مفید می‌باشند. در روش ویسمن برای غنی‌سازی سلول‌های بنیادی خونساز، چرا به کارگیری موش های پرتو دیده برای اثبات غنی‌سازی ضروری می‌باشد؟

۱۰- تفاوت میان منوسیت و ماکروفاژ را توضیح دهید.

۱۱- اثرات خارج نمودن بورسافابرسیوس در جوجه‌های مرغ چیست؟

۱۲- برخی میکروارگانیسم‌ها مثل نیسریاگونوره‌آ،مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و کاندیدا آلبیکنیس جزو پاتوژن‌های داخل سلولی طبقه‌بندی می‌شوند. این اصطلاح را تعریف کنید و توضیح دهید که چرا پاسخ ایمنی به این پاتوژن‌ها با سایر پاتوژن‌هامثل استاف اورئوس و استرپتوکوک پنومونیه تفاوت دارد.

۱۳-کدام‌یک از گزینه‌های زیر در مورد طحال درست و کدام یک نادرست می‌باشد، در صورتی‌که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست می‌باشد، دلیل خود را بیان کنید.

الف) آنتی‌ژن‌های موجود در خون را پاکسازی می‌کند

ب) ناحیه حاشیه‌ای غنی از سلول‌های T و غلاف لنفوئیدی دورشریانچه ای (PALS) غنی از سلول‌های B می‌باشد.

پ) حاوی مراکززایا می‌باشد.

ت) عملکرد آن برداشت گلبول‌های قرمز پیر و معیوب می‌باشد.

ث) عروق لنفاوی آوران از فضاهای بافتی وارد طحال می‌شوند.

ج) عملکرد غده لنفی(نه طحال) بوسیله تخریب ژن Ikaros تحت تاثیر قرار می‌گیرد.

۱۴- برای هر نوع از سلول‌های زیر (الف تا ش)، بهترین توصیف (۱ تا ۱۶) را انتخاب کنید. هر توصیف ممکن است یک‌بار، بیش از یک‌بار و یا اصلاً استفاده نشود.

الف) ---------- سلول‌های پیش‌ساز مشترک رده میلوئید.

ب)---------- منوسیت‌ها

پ) ---------- ائوزینوفیل‌ها

www.bbooks.ir

ت) ---------- NK

ث)---------- سلول‌های کوپفر

ج) ---------- نوتروفیل‌ها

ح) ---------- سلول‌های M

خ) ---------- سلول‌های دندریتیک

د) ---------- سلول‌های استرومایی مغز استخوان

ذ) ---------- لنفوسیت‌ها

ر) ---------- سلول NKT

ز) ---------- سلول میکروگلیال

ژ) ---------- سلول دندریتیک میلوئید

س) ---------- سلول‌های بنیادی خونساز

ش) ---------- ماست‌سل‌ها

توصیف

۱- سلول‌های اصلی عرضه کننده آنتی‌ژن به سلول‌های T_H

۲- سلول‌های بیگانه‌خوار سیستم عصبی مرکزی

۳- سلول‌های بیگانه‌خوار اصلی در دفاع بدن علیه ارگانیسم‌های انگلی

۴- ماکروفاژهای کبدی

۵- سلول‌های قرمز خونی از آن مشتق می‌شوند.

۶- یک سلول عرضه کننده آنتی‌ژن که از منوسیت‌ها مشتق شده و بیگانه‌خوار نمی‌باشد.

۷- معمولاً اولین سلول حاضر در محل التهاب می‌باشد.

۸- عوامل محرک کلونی (CSFs) را ترشح می‌کنند.

۹- تیموسیت‌ها از آن مشتق می‌شوند.

www.bbooks.ir

۱۰- سلول‌های خونی در حال گردش که در داخل بافت‌ها به ماکروفاژ تمایز می‌یابند.

۱۱- یک APC که از همان پیش‌ساز سلول‌های T بوجود می‌آید.

۱۲- سلول‌هایی که در برداشت آنتی‌ژن از مجاری گوارشی اهمیت دارند.

۱۳- سلول‌های گرانولار و غیر بیگانه‌خوار که مواد فعال متنوعی را رها می‌کنند.

۱۴- سلول‌های سفید خونی که به بافت‌ها مهاجرت کرده و نقش مهمی در ایجاد آلرژی برعهده دارند.

۱۵- سلول‌هایی که هدف خود را گاهی اوقات با کمک پذیرنده سطحی ویژه آنتی‌ژن و برخی اوقات با مکانیسمی مانند سلول NK می‌شناسند.

۱۶- اعضای یک گروه سلولی که در ماهی‌های بدون آرواره یافت نمی‌شوند.

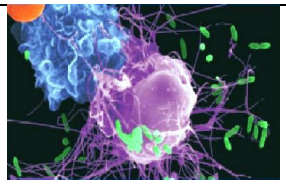
www.bbooks.ir

فصل سوم

ایمنی ذاتی

- سدهای آناتومیک
- ارتباط بین سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی
- التهاب
- پذیرنده‌های شبه Toll
- انواع سلول‌های ایمنی ذاتی
- مسیرهای انتقال پیام
- وسعت ایمنی ذاتی

www.bbooks.ir



مهره‌داران توسط دو سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی محافظت می‌شوند. ایمنی ذاتی[1]، دفاع‌هایی را شامل می‌شود که پیش از تهاجم پاتوژن آماده فعالیت می‌باشند . سیتسم ایمنی ذاتی شامل سدهای فیزیکی، شیمیایی و سلولی می‌باشد. مهم‌ترین سدهای فیزیکی، پوست و غشاهای مخاطی می‌باشند. سدهای شیمیایی شامل قدرت اسیدی محتویات معده و مولکول‌های تخصص یافته محلول با خاصیت ضد میکربی می‌باشند. سطح سلولی دفاع ایمنی ذاتی،شامل آرایشی از سلول‌های با پذیرنده‌های حساس می‌باشند که محصولات میکربی را شناسایی نموده و بر ضد آنها تحریک می‌شوند. پاسخ به تهاجم عامل عفونت‌زا، که بر موانع ابتدایی پوست و غشاهای مخاطی، فائق آمده است بسیار سریع (دقائقی پس از تهاجم) می‌باشد.

علیرغم وجود چندین لایه سیستم ایمنی ذاتی ، برخی از پاتوژن‌ها قادرند از دفاع ذاتی فرار کنند. سیستم گوش به زنگ دومی با نام ایمنی تطابقی[2] یا اکتسابی[3] که در پی مواجهه با عوامل بیماری‌زا تحریک شده و با پاسخی مناسب واختصاصی با پاتوژن مقابله کرده و بواسطه جمعیت‌های بزرگی از لنفوسیت‌های T و B آن را مورد تهاجم قرار می‌دهد. پاسخ ایمنی اکتسابی قبل از این که کاملاً کارآمد شود، یک هفته یا بیشتر زمان می‌برد. ایمنی اکتسابی پدیده‌ای با نام خاطرهٔ ایمنی را نشان می‌دهد که تنها توسط پاتوژن خاصی به راه می‌افتد ودر مواجهه بعدی، فراخوانی سریع‌تر و اغلب پاسخ شدیدتری را به دنبال خواهد داشت. شناخت مهاجم توسط آنتی‌بادی‌ها و پذیرنده‌های سلولT انجام می‌گیرد. این

1- innate immunity
2-adaptive immunity
3-acquired immunity

www.bbooks.ir

مولکول‌ها، از ژن‌هایی با خصوصیات بسیار ویژه تولید می‌شوند و تحت تغییر و تنوع (بازآرایی) قرار می‌گیرند.

ایمنی ذاتی یکی از قدیمی‌ترین سدهای دفاعی مهره‌داران علیه میکرب‌ها می‌باشد. برخی از اشکال ایمنی ذاتی در تمام گیاهان چند سلولی و جانوران یافت شده‌است. ایمنی اکتسابی در مهره‌داران آرواره‌دار،تکامل یافته و نسبت به ایمنی ذاتی بسیار دیر تکامل یافته است. جدول ۱-۳ ایمنی ذاتی و اکتسابی را بایکدیگر مقایسه می‌کند.

TABLE 3-1 Innate and adaptive immunity

Attribute	Innate immunity	Adaptive immunity
Response time	Minutes/hours	Days
Specificity	Specific for molecules and molecular patterns associated with pathogens	Highly specific; discriminates even minor differences in molecular structure; details of microbial or nonmicrobial structure recognized with high specificity
Diversity	A limited number of germ line–encoded receptors	Highly diverse; a very large number of receptors arising from genetic recombination of receptor genes
Memory responses	None	Persistent memory, with faster response of greater magnitude on subsequent infection
Self/nonself discrimination	Perfect; no microbe-specific patterns in host	Very good; occasional failures of self/nonself discrimination result in autoimmune disease
Soluble components of blood or tissue fluids	Many antimicrobial peptides and proteins	Antibodies
Major cell types	Phagocytes (monocytes, macrophages, neutrophils), natural killer (NK) cells, dendritic cells	T cells, B cells, antigen-presenting cells

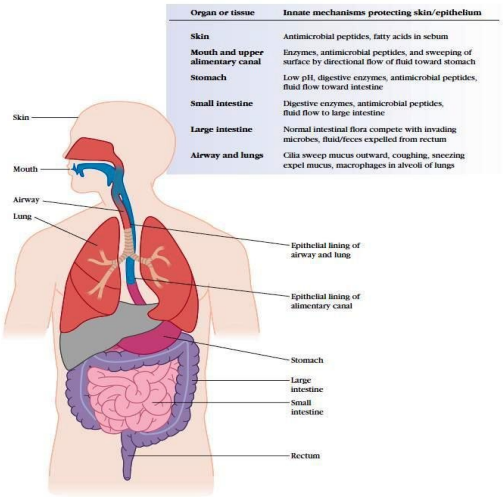
تحقیقات گسترده نشان می‌دهد، از آنجایی که ایمنی ذاتی و اکتسابی همزمان تکامل یافته‌اند، وابستگی متقابل و برهمکنش قابل توجهی بین این دو سیستم به وجود آمده است. در حقیقت، اگر یک پاتوژن به طور کامل از خط اولیه دفاعی عبور کند، پاسخ سیستم ایمنی اکتسابی بسیار ضعیف خواهد بود. شناسایی توسط ایمنی ذاتی مرحله‌ای برای پاسخ مؤثر ایمنی اکتسابی می‌باشد.

در این فصل اجزای سیستم ایمنی ذاتی (سدهای فیزیکی و فیزیولوژیک، عوامل شیمیایی محلول و انواع گوناگون سلول‌ها و پذیرنده‌های آنها) را توصیف می‌کنیم و نشان خواهیم داد چگونه اینها با هم در دفاع از بدن مشارکت می‌کنند و سپس با مروری بر ایمنی ذاتی در راسته گیاهان و جانوران، فصل را به پایان خواهیم برد.

www.bbooks.ir

- سدهای آناتومیک

یکی از آشکارترین اجزای سیستم ایمنی ذاتی در برابر میکروب‌های مهاجم، سدهای خارجی می‌باشند که شامل پوست و سطوح مخاطی مانند اپی‌تلیال مخاطی مفروش کننده مجاری تنفسی، گوارشی و تناسلی می‌باشند و محیط‌های داخلی بدن را از پاتوژن‌های دنیای خارج جدا می‌کنند (شکل ۱-۳).



Organ or tissue	Innate mechanisms protecting skin/epithelium
Skin	Antimicrobial peptides, fatty acids in sebum
Mouth and upper alimentary canal	Enzymes, antimicrobial peptides, and sweeping of surface by directional flow of fluid toward stomach
Stomach	Low pH, digestive enzymes, antimicrobial peptides, fluid flow toward intestine
Small intestine	Digestive enzymes, antimicrobial peptides, fluid flow to large intestine
Large intestine	Normal intestinal flora compete with invading microbes, fluid/feces expelled from rectum
Airway and lungs	Cilia sweep mucus outward, coughing, sneezing expel mucus, macrophages in alveoli of lungs

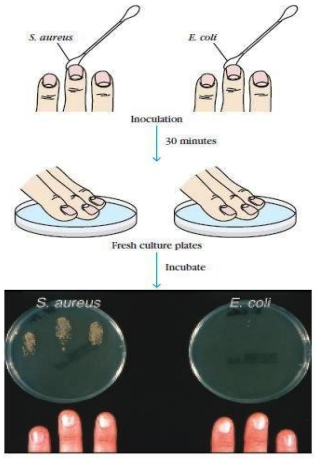
شکل ۱-۳: سدهای پوستی و اپی تلیال در برابر عفونت. لایه های اپی تلیال مخاطی و پوست با سازوکارهای متعددی در برابر کلونیزاسیون میکرب ها مقاومت می کنند که عبارتند از: سازوکارهای شیمیایی (آنزیم ها، پپتید های ضد میکربی و PH)، مکانیکی (مژه و جریان مایعات مخاطی) و سلولی (ماکروفاژهای آلوئولی)

پوست، شامل دو لایه مجزای اپیدرم۱ (لایه نازک خارجی) و درم۲ (لایه ضخیم‌تر داخلی) می‌باشد. اپیدرم از چندین لایه سلول‌های اپی‌تلیال به هم فشرده تشکیل شده است. خارجی‌ترین لایه اپیدرم، انباشته از سلول‌های مرده و پروتئین ضد آبی با نام کراتین

1- epidermis
2- dermis

www.bbooks.ir

می‌باشد. درم از بافت پیوندی تشکیل شده و حاوی عروق خونی، فولیکوهای مو و غدد چربی و مولد عرق می‌باشد. پوست و اپی‌تلیوم، پوششی را برای محافظت بخش‌های داخلی بدن از دنیای خارج فراهم می‌کنند. اما این سدهای فیزیکی بیشتر از یک روپوش غیر فعال می‌باشند. آنها همچنین با تولید و به کارگیری پروتئین و پپتیدهای با فعالیت ضد میکربی، دفاع فعال بیوشیمیایی را تدارک می‌بینند. در میان عوامل بسیاری که توسط پوست انسان تولید می‌شود، تحقیقات اخیر، پسوریازین۱ (پروتئین کوچکی با خاصیت ضد میکربی و علیه E.coli) را شناسایی کرده است. این یافته به یک سئوال قدیمی پاسخ می‌دهند: چرا علیرغم مواجهه دائمی با E.coli ، پوست انسان نسبت به استقرار E.coli مقاوم می‌باشد؟ همان‌طور که شکل ۲-۳ نشان می‌دهد،



شکل ۲-۳: پسوریازین که یک پروتئین ضد میکربی می باشد، مانع از کلونیزاسیون *E.coli* در پوست می شود. تلقیح *استافیلوکوک اورئوس* و *E.coli* به انگشتان یک فرد سالم: پس از ۳۰ دقیقه انگشتان در یک پلیت نوترینت آگار گذاشته شده و تعداد کلونی های *استافیلوکوک* و *E.coli* شمارش شد. تقریباً تمام *E.coli* ها از بین رفته و اکثر *استافیلوکوک ها* زنده ماندند.

1-psoriasin

www.bbooks.ir

مجاورت E.coli با پوست انسان تنها به مدت ۳۰ دقیقه، به طور اختصاصی این باکتری را از بین خواهد برد. توانایی پوست و اپی‌تلیوم در تولید محدوده وسیعی از عوامل ضد میکربی با اهمیت می‌باشند زیرا تخریب پوست در نتیجه خراش یا جراحت، مسیری برای ورود میکرب‌های پاتوژن به وجود می‌آورد و در صورتی که این شیوه‌های دفاع بیوشیمیایی با آن‌ها مقابله نکنند، به راحتی عفونت ایجاد می‌کنند. پوست همچنین به‌وسیله نیش حشرات (پشه، مایت، کنه، کک، پشه خاکی) نفوذپذیر می‌شود که می‌توانند ارگانیسم‌های پاتوژن را در هنگام تغذیه وارد بدن کنند. برای نمونه، پروتوزوآی عامل مالاریا، توسط پشه وارد بدن انسان می‌شود، همانگونه که ویروس عامل تب نیل غربی عمل می‌نماید. به طور مشابه، باکتری عامل طاعون خیارکی نیز توسط نیش کک و باکتری عامل لایم در اثر نیش کنه منتقل می‌شوند.

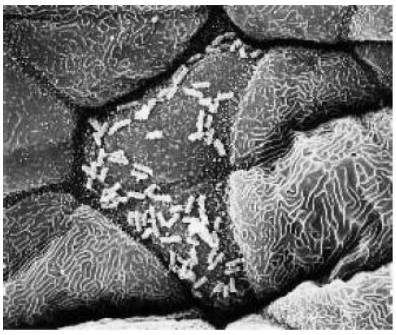
برخلاف پوست ، مجاری گوارش، تنفسی و تناسلی و چشم‌ها توسط غشاهای مخاطی پوشیده شده‌اند که از یک لایه اپی‌تلیال خارجی و یک لایه بافت همبند در زیرآن تشکیل می‌شوند. بسیاری از پاتوژن‌ها، با نفوذ به این غشاها وارد بدن می‌شوند؛ دفاع در مقابل این ورود شامل شماری از مکانیسم‌های دفاعی غیر اختصاصی می‌باشد. برای نمونه، ترشحات بزاق، اشک و مخاط باشستشو سبب دور شدن عوامل بالقوه مهاجم می‌شوند و همچنین حاوی مواد ضد باکتریایی و ضد ویروسی می‌باشند.مایع چسبنده‌ای که **موکوس** نامیده می‌شود و توسط سلول‌های اپی‌تلیال غشاهای مخاطی ترشح می‌شود، میکروارگانیسم‌های خارجی را به دام می‌اندازد. در مجاری تنفسی تحتانی، غشای مخاطی توسط مژک‌ها[1] پوشیده شده است. حرکت ضربانی مژه‌ها، میکروارگانیسم‌های به دام افتاده در مخاط را از این مجاری به بیرون می‌راند. با هر وعده غذا، مقادیر بالایی از میکروارگانیسم‌ها را می‌بلعیم اما آنها برای ورود باید از دفاع‌های ابتدایی مانند ترکیبات ضد میکربی بزاق و اپی‌تلیوم دهان و مخلوطی از اسید و آنزیم‌های هضم کننده معده عبور کنند. علاوه بر صفوفی از دفاع‌های

1- cilia

www.bbooks.ir

بیوشیمیایی و آناتومیک، میکرب‌های پاتوژن برای بدست آوردن منابع بدن باید با بسیاری از ارگانیسم‌های غیرپاتوژن که در سطوح مخاطی استقرار یافته‌اند، رقابت کنند. این فلورنرمال با محیط اطراف خود فوق‌العاده سازگاری یافته‌اند و معمولاً برای جایگاه اتصال و تأمین احتیاجات غذایی خود از سطوح اپی‌تلیال نسبت به پاتوژن‌های خارجی برتری دارند.

برخی ارگانیسم ها برای فرار از دفاع غشاهای مخاطی مسیرهای تکامل یافته‌ای دارند؛ برای نمونه ویروس آنفولانزا مولکولی سطحی دارد که آن را قادر می‌سازد به طور محکم به سلول‌های غشاهای مخاطی مجاری تنفسی اتصال یابد و ویروس را از بیرون رانده شدن توسط سلول‌های مژک‌دار اپی تلیال محافظت می‌کند. ارگانیسم عامل سوزاک، با برآمدگی‌های سطحی خود به سلول‌های اپی‌تلیال غشای مخاطی مجاری تناسلی متصل می‌گردد. به طور کلی، اتصال باکتری به غشاهای مخاطی، توسط برآمدگی‌های مومانند سطح باکتری با نام **فیمبریه**[1] یا **پیلی**[2] میانجی‌گری می‌شود (شکل ۳-۳).



شکل ۳-۳: میکروگراف الکترونی باکتری های E.coli باسیلی شکل بر سطوح اپی تلیال مجاری ادراری

به این دلیل و دلایل دیگر، علیرغم کارآمدی دفاع سدهای اپی‌تلیال، برخی از بافت‌ها نسبت به تهاجم پاتوژن‌های خاص، حساس ترند.

1- fimbriae
2-pili

www.bbooks.ir

- ارتباط بین سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی

زمانی که پاتوژن از سدهای غیر اختصاصی فیزیولوژیک و آناتومیک بدن عبور می‌کند، بدنبال آن عفونت و بیماری ایجاد می‌گردد. سیستم ایمنی با دو عملکرد عمده (شناسایی مهاجم و حمله به آن) به تهاجم پاسخ می‌دهد. شناسایی ابتدایی پاسخ ایمنی، زمانی صورت می‌گیرد که مهاجم با مولکول های محلولی یا متصل به غشای میزبان که قادرند به طور دقیق بین خودی و بیگانه تمایز قائل شوند، میانکنش دهد. این حسگرهای مولکولی، محدوده وسیعی از توالی‌های ساختاری را شناسایی می‌کنند. بدلیل این که آنها الگوهای مولکولی خاصی را شناسایی می‌کنند، چنین پـــذیرنده‌هایی را **پذیرنده‌های شناسایی کننـده الگو**[1] (PRRs) می‌نامند و ایـــن الگوهای میکربی، **الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن**[2] (PAMPs) نامیده می‌شوند. PAMP های شناسایی شده توسط PRRها، شامل ترکیبات قندی، برخی پروتئین‌ها، مولکوهای حاوی لیپیدهای ویژه و برخی توالی‌های اسیدنوکلئیک می‌باشند. محدودیت سیستم ایمنی ذاتی در شناسایی الگوهای مولکولی موجود بر روی میکرب‌ها موجب شده تا این سیستم، بیشتر از این که بر روی عواملی که صرفاً غیرخودی می‌باشند، بر روی ماهیت این الگوها تمرکز نماید.

با شناسایی PAMPها توسط واسطه‌های محلول و غشایی ایمنی ذاتی، سایر اجـزای ایمنـی فراخوانده می‌شوند. واسطه‌های محلول شامل آغازگرهای **سیسـتم کمپلمـان**[3] مثـل **لکتـین متصل شونده به مانوز**[4] (MBL)و **پروتئین واکنشگر C**[5](CRP) می‌باشند. اگر پاتوژن حاوی PAMP توسط این واسطه‌ها شناسایی شود، سیستم کمپلمان فعـال خواهـد شـد (فصـل ۷). بخشی از سیستم کمپلمان از پروتئین‌هایی تشکیل شده کـه بـا فعـال شدنشـان منافـذی در

1-pattern recogition receptors
2-pathogen associated molecular pattern
3-complent system
4-mannose-binding lectin
5-C-reative protein

www.bbooks.ir

غشای میکرب ایجاد گردیده که سبب کشتار با واسطه لیز سلول می‌گردد. سیستم کمپلمان همچنین حاوی گلیکوپروتئین‌های سرمی بوده که وقتی فعال می‌شوند، برداشت میکروارگانیسم‌ها توسط فاگوسیت‌ها را افزایش می‌دهند. سیستم کمپلمان، واسطه‌ای بین ایمنی ذاتی و اکتسابی می‌باشد؛ به گونه‌ای که فعال شدن آبشار کمپلمان می‌تواند هم توسط مولکول‌های شناساگر PAMP و هم بوسیله آنتی‌بادی‌های متصل به آنتی‌ژن بیگانه، صورت پذیرد. درمجموع، برخی از محصولات جانبی حاصل از فعال شدن کمپلمان، سبب افزایش التهاب شده و از این طریق لکوسیت‌ها را به محل عفونت فرا می‌خواند که مرحله دیگری از پاسخ را آغاز می‌کنند.

سلول‌های دندریتیک نابالغ و ماکروفاژهای بافت مورد تهاجم، پذیرنده‌های گوناگونی دارند. یکی از مهمترین پذیرنده‌های ذاتی، **پذیرنده‌های شبه Toll (TLRs)** بوده که محصولات میکربی را شناسایی می‌کنند. بیش از ۱۲ نوع از این پذیرنده‌ها درموش و ۱۱ نوع در انسان شناسایی شده‌اند. هر TLR با یک محصول میکربی مشخص واکنش می‌دهد. این پذیرنده‌های چند کاره به سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها امکان شناسایی طیف وسیعی از پاتوژن‌ها را اعطا می‌کنند. پیام‌های به راه افتاده از TLR ماکروفاژها ، فعالیت بیگانه‌خواری را تحریک نموده وسبب تولید عوامل شیمیایی می‌گردد که برای میکرب‌های بلیعده شده سمی می‌باشند. ماکروفاژها همچنین رده خاصی از مولکول‌های گوناگون را ترشح می‌کنند که در مجموع **سایتوکاین**[1] نامیده می‌شوند؛ سایتوکاین‌ها پروتئین‌های شبه هورمون یا شبه فاکتور رشد می‌باشند که با واسطه پذیرنده‌های سلولی خاصی فعالیت‌های ویژه سلولی را القا می‌کنند (فصل ۱۲).

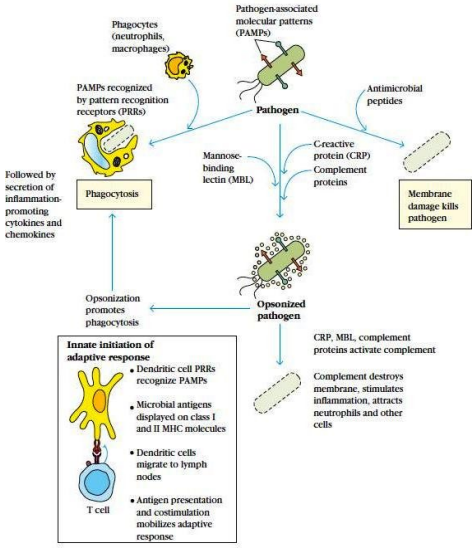
در جایگاه عفونت، سلول‌های دندریتیک نابالغ با به داخل کشیدن و عرضه آنتی‌ژن،بالغ شده و سپس به بافت‌های لنفوئیدی مهاجرت می‌کنند و درآنجا آنتی‌ژن را به سلول‌های T عرضه می‌کنند که مرحله کلیدی درآغاز پاسخ ایمنی اکتسابی علیه عامل مهاجم به شمار

1-cytokine

www.bbooks.ir

می‌آید. بنابراین، این فعالیت پلی بین سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی می‌باشد. سلول‌های دندریتیک همچنین سایتوکاین‌های متنوعی را ترشح می‌کنند که سبب افزایش التهاب شده و به طور مستقیم به پاسخ ایمنی اکتسابی میزبان کمک می‌کنند.

تمام عملکردهای ایمنی ذاتی، در ابتدای عفونت رخ می‌دهند؛ پیش از این که جمعیت‌های اختصاصی سلول‌های T و آنتی‌بادی‌های اختصاصی پاتوژن تولید شوند. با این حال، سایتوکاین‌های رها شده از سلول‌های درگیر در پاسخ ذاتی، روی ماهیت پاسخ‌های ایمنی اکتسابی ایجاد شده علیه عفونت تأثیر می‌گذارند. مولکول‌ها و سلول‌های اجرایی که توسط سیستم ایمنی ذاتی علیه عفونت به خدمت گرفته می‌شوند در شکل ۴-۳ خلاصه شده‌اند.



شکل مروری ۴-۳: آثار پاسخ های ایمنی ذاتی به عفونت

در بسیاری از موارد سیستم ایمنی ذاتی به تنهایی می‌تواند سبب تخریب و حذف عامل عفونی شود. در صورت عدم موفقیت، پاتوژن با دفاع سیستم ایمنی اکتسابی روبرو خواهد شد. در طی پاسخ ایمنی اکتسابی سلول‌های T سایتوتوکسیک، پاتوژن داخل سلولی را

www.bbooks.ir

شناسایی و تخریب می‌کنند و آنتی‌بادی‌ها نیز توان تهاجمی پاتوژن برای آلوده سازی سایر سلول‌های میزبان را خنثی نموده و همچنین احتمال فاگوسیتوز مهاجم توسط ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها را افزایش می‌دهند. آنتی‌بادی‌ها همچنین با همکاری سیستم کمپلمان سبب لیز میکرب‌های پاتوژن می‌شوند. پس از پاکسازی عفونت، برخی از سلول‌های B و T تولید شده طی مرحله ایمنی اکتسابی، به عنوان سلول‌های خاطره‌ای B و T به مدت طولانی در میزبان باقی می‌مانند. عفونت‌های بعدی با همان عامل پاتوژن، با ذخیره‌ای آماده از لنفوسیت‌های اختصاصی پاتوژن، مواجه خواهد شد که قادر به پاسخ‌دهی سریع می‌باشند.

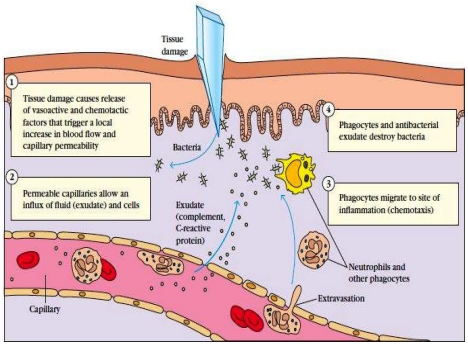
- التهاب

وقتی پاتوژن‌ها از سدهای ایمنی ذاتی (پوست و غشاهای مخاطی) عبور می‌کنند، در پی عفونت یا آسیب بافتی، سلسله وقایع پیچیده‌ای با نام **پاسخ التهابی**[1] تحریک می‌گردد. التهاب ممکن است حاد یا مزمن باشد (فصل ۱۳). پاسخ التهابی حاد، در مراحل ابتدایی عفونت وارد عمل می‌شود و مسیری را آغاز می‌کند که منجر به ترمیم بافت آسیب دیده می‌گردد. شاخص‌های پاسخ التهابی موضعی، برای اولین‌بار توسط رومی‌ها در ۲۰۰۰ سال پیش توصیف شده بود که تورم، سرخی، گرمی و درد می‌باشند. یک شاخص اضافی برای التهاب با نام کاهش عملکرد نیز در قرن دوم بوسیله گالن[2] به آن اضافه شد. دقایقی پس ازآسیب‌بافتی، قطر عروق افزایش می‌یابد و موجب افزایش حجم خون در موضع می‌گردد. افزایش حجم خون سبب گرم شدن و سرخی بافت می‌شود. نفوذپذیری عروق نیز افزایش یافته و منجر به نشست مایع از عروق خونی می‌گردد. این تجمع مایع منجر به **ادم**[3] یا تورم بافت می‌شود.

1-inflammatory response
2-Galen
3-edema

www.bbooks.ir

پس ازچند ساعت، لکوسیت‌ها به سلول‌های اندوتلیال ناحیه ملتهب چسبیده و از خلال دیواره مویرگ‌ها عبور کرده و وارد بافت می‌شوند. این مرحله **خروج از رگ**[1] خوانده می‌شود (شکل ۵-۳).



شکل ۵-۳: فعالیت ماکروفاژها و عوامل ضد میکربی در جریان خون.

این لکوسیت‌ها پاتوژن‌های مهاجم را بلیعده و واسطه‌هایی را رها می‌کنند که در پاسخ التهابی شرکت داشته و سبب فراخوانی و فعال شدن سلول‌های اجرایی می‌شوند.

یکی از این واسطه‌ها، خانواده سایتوکاین‌ها بوده که به آن اشاره شد. سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های سفید خونی و سایر سلول‌های بدن، درپاسخ به محرک‌ها ترشح می‌شوند و نقش مهمی در تنظیم تکوین و رفتار سلول‌های اجرایی ایمنی دارند. **کموکاین‌ها**[2] (فصل ۱۳) زیرگروه اصلی سایتوکاین‌ها می‌باشند و به عنوان **جاذب شیمیایی**[3] (عواملی که سبب جذب سلول‌ها به سمت غلظت بیشتر خود می‌باشند) عمل می‌کنند. با این حال، تمام جاذب‌های شیمیایی، کموکاین نمی‌باشند. سایر جاذب‌های شیمیایی مهم شامل محصولات حاصل از شکست کمپلمان (C5a,C3a) و پپتیدهای N – فرمیل متیونین حاصل از تخریب پروتئین‌های باکتری در طول التهاب می‌باشند. اتصال کموکاین‌ها یا سایر جاذب‌های شیمیایی

1-extravasation
2-chemokines
3-chemoattractants

www.bbooks.ir

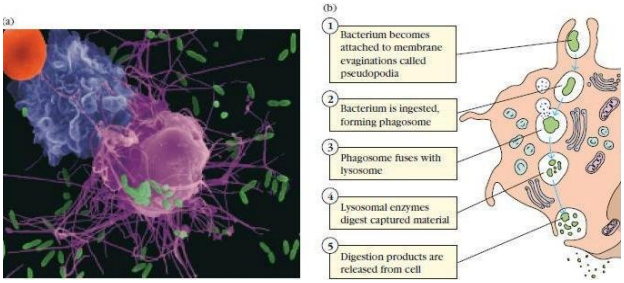
به پذیرنده‌های خود روی غشای نوتروفیل، سبب به راه افتادن آبشاری از پیام‌ها می‌شود که منجر به تغییر شکل فضایی مولکول‌های غشایی نوتروفیل با نام **اینتگـرین**[1] مـی‌گـردد، ایـن عمل میل پیوندی آنها برای اتصال به **مولکول‌های چسبان بین سـلول**[2] **(ICAMs)** موجـود روی اندوتلیوم را افزایش می‌دهد.

اگر چه انواع گوناگونی از جاذب‌های شیمیایی وجود دارند، ولی کموکاین‌ها مهمترین آنهـا می‌باشند و به طورانتخابی، اتصال، کموتاکسی و فعال شدن زیرگروه خاصی از لکوسیت‌هـا را کنترل می‌کنند. کموکاین‌های التهابی معمولاً در پاسخ به عفونت یا در نتیجه پاسخ سلول‌ها به سایتوکاین‌های پیش‌التهابی القا می‌شوند. کموکاین‌ها با تحریـک چسـبندگی لکوسـیت‌هـا بـه اندوتلیوم عروق خونی، منجر به حرکت این سلول‌هـای بـه جایگاههـای گونـاگون در بافـت می‌شوند. پس از مهاجرت به بافت‌ها، لکوسیت‌ها به سمت غلظت‌هـای بیشـتر کموکـاین در جایگاه عفونت حرکت می‌کنند. بنابراین فاگوسیت‌ها و جمعیتی از لنفوسیت‌هـای اجرایـی بـه کانون التهاب جذب می‌شوند.

یکی از وظایف عمده سلول‌های جذب شده به جایگاه التهـاب، فاگوسـتیوز ارگانیسـم‌هـای مهاجم می‌باشد. الی مچنیکوف فرآیند فاگوسیتوز را در سال ۱۸۸۰ شرح داد و نقش اساسی آن را در التهاب توضیح داد. او این گونه فرض کرد که گلبول‌های سفید خونی که پاتوژن‌هـا را به داخل کشیده و ازبین می‌برند، سـلول‌هـای اجرایـی اصـلی در ایمنـی بـوده و براسـاس قضاوت او بسیار مهم‌تر از دفاع با واسطه اجزای سرم (آنتی‌بادی‌هـا) بودنـد. مچنیکـوف در نسبت دادن نقش حیاتی فاگوستیوز سلول‌ها، قضاوتی صحیح داشت و امروزه مـی‌دانـیم کـه فقدان این عملکرد منجر به نقـایص شـدید ایمنـی مـی‌گـردد. فرآینـد عمـومی فاگوسـتیوز باکتری‌ها در شکل ۶-۳ نشان داده شده است.

1-integrin
2-intracellular adhesion molecules (ICAMS)

www.bbooks.ir



شکل ۶-۳: (a) میکروگراف الکترونی از یک ماکروفاژ که به باکتری *E.coli* حمله کرده است. منوسیت ها توسط فاکتورهای محلول مترشحه از ماکروفاژها فعال می شوند. (b) مراحل فاگوسیتوز یک باکتری

میکروارگانیسم‌ها به درون کشیده شده و در داخل ماکروفاژ لیز می‌شوند و محصولات حاصل از لیز، به خارج می‌ریزند. این محصولات شامل مولکول‌های PAMP می‌باشند که به پذیرنده‌های سلولی متصل شده و برای حضور پاتوژن‌ها اعلام خطر می‌کنند.

- خروج لکوسیت از رگ ، فرآیندی چند مرحله‌ای و بسیار تنظیم شده می‌باشد

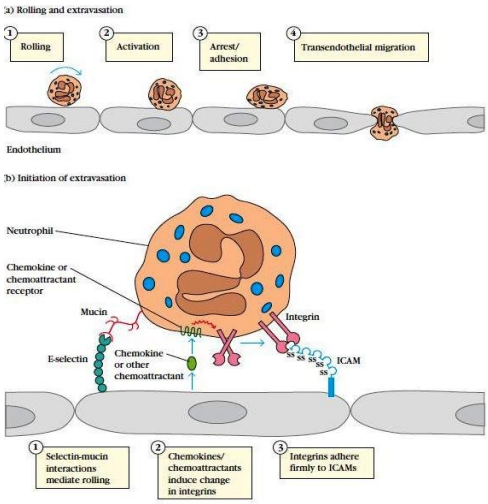
فرآیند بشدت تنظیم شده خروج از رگ ، مسئول مهاجرت لکوسیت ها از گردش خون به جایگاه عفونت می‌باشد. زمانی که پاسخ التهابی شکل می‌گیرد، سایتوکاین‌های مختلف و سایر واسطه‌های التهابی، روی اندوتلیوم عروق خونی موضعی اثر گذاشته و باعث افزایش بیان **مولکول‌های چسبان سلولی[1] (CAMs)** می‌شوند. اپی تلیوم تحت تأثیر قرار گرفته، اپی تلیوم ملتهب یا فعال شده خوانده می‌شود. از آنجایی که به طور کلی، نوتروفیل‌ها اولین سلول‌هایی می‌باشند که به اندوتلیوم ملتهب متصل شده و به سمت بافت از عروق خارج می‌شوند. خروج از رگ، نوتروفیل‌ها را با چالش‌های زیادی مواجه می‌کند. ابتدا آنها با ید اندوتلیوم ملتهب را شناسایی کرده و سپس محکم به آن اتصال یابند به طوری که با جریان خون جدا

1-cell adhesion molecules

www.bbooks.ir

نشوند؛ و نوتروفیل‌ها در حالی که به دیواره رگ چسبیده‌اند باید به لایه اندوتلیال نفوذ کرده و به بافت‌های زیرین دسترسی پیدا کنند.

خروج از رگ نوتروفیل را می‌توان به چهار مرحله تقسیم نمود: ۱- غلتیدن ۲- فعال شدن توسط تحریک جاذب شیمیایی ۳- توقف و چسبیدن ۴- مهاجرت از بین اندوتلیال (شکل ۷a-۳). درگام نخست، نوتروفیل‌ها توسط واکنش با میل پیوندی پایین بین گلیوکوپروتئین‌های موسینی روی نوتروفیل و سلکتین‌های روی سلول‌های اندوتلیال به شکل ضعیفی به اندوتلیوم می‌چسبند (شکل ۷b-۳).



شکل ۷-۳: (a) غلتیدن نوتروفیل و خروج آن از رگ. (b) مولکول های چسبان سلولی و کموکاین های دخیل در خروج نوتروفیل از رگ.

در غیاب پیام‌های اضافی، میانکنش‌های ضعیف بین نوتروفیل و اندوتلیال به سرعت توسط نیروی حاصل از جریان خون شکسته می‌شوند. همچنان که نواحی سطح نوتروفیل پی‌درپی متصل و جدا می‌شوند، نوتروفیل در طول اندوتلیوم می‌غلتد.

زمانی که نوتروفیل در طول اندوتلیوم می‌غلتد، با کموکاین‌ها یا سایر مواد جاذب شیمیایی جایگاه التهاب مواجه می‌شود. برهمکنش‌های بعدی بین اینتگرین‌ها و ICAM ها، سبب

www.bbooks.ir

پایداری چسبندگی نوتروفیل به سلول اندوتلیال می‌گردد و سلول را قادر می‌سازد تا از بین سلول‌های اندوتلیوم عبور کند.

- مولکول‌های محلول و پذیرنده‌های غشایی

سیستم ایمنی ذاتی برای اعمال اجرایی خود هم از پذیرنده‌های متصل به غشا هم از مولکول‌های محلول بهره می‌برد. برخی از مولکول‌های محلول درجایگاه عفونت تولید شده و به طور موضعی عمل می‌کنند. این مولکول‌های محلول شامل پپتیدهای ضد میکربی، دفنسین‌ها و کاتلیسیدین‌ها می‌باشند و همانند **اینترفرون‌ها** که گروه مهمی از سایتو کاین‌های با فعالیت ضد ویروسی می‌باشند، در زیر و به طور کاملتر در فصل ۱۲ بحث خواهند شد. سایر عوامل محلول اجرایی، در جایگاههای دورتری تولید شده و از طریق گردش خون به بافت‌های هدف خود می‌رسند. پروتئین‌های کمپلمان و پروتئین‌های مرحله حاد نیز در این گروه قرار می‌گیرند. ماهیت این عوامل اجرایی و همراهی آنها در دفاع میزبان در زیر بحث شده است.

- پپتیدهایی ضد میکربی در دفاع ذاتی علیه باکتری‌ها و قارچ‌ها شرکت دارند

پپتیدهای با فعالیت ضد میکربی از انسان، قورباغه، حشرات، نماتود و برخی گونه‌های گیاهی جدا شده‌اند (جدول ۲-۳).

TABLE 3-2 Some antimicrobial peptides

Peptide	Typical producer species*	Typical microbial activity*
Defensin family		
α-Defensins	Human (found in paneth cells of intestine and in cytoplasmic granules of neutrophils)	Antibacterial
β-Defensins	Human (found in epithelia and other tissues)	Antibacterial
Cathelicidins	Human, bovine	Antibacterial
Magainins	Frog	Antibacterial; antifungal
Cercropins	Silk moth	Antibacterial
Drosomycin	Fruit fly	Antifungal
Spinigerin	Termite	Antibacterial; antifungal

*In many cases, production of the indicated antimicrobial peptide or family is not limited to the typical producer but is produced by many different species. Also, some members of the indicated peptide or family may have broader antimicrobial activity than the typical one indicated.

www.bbooks.ir

این شیوه دفاعی کم‌تر تکامل یافته و حفاظت شده، بیش از ۸۰۰ پپتید ضد میکربی گوناگون از آن شناخته شده که گواهی بر کارآمدی آن می‌باشد. طول این مولکول‌ها از ۶۰ تا ۵۹ اسید آمینه متغیر بوده و بیشتر آنها بارالکتریکی مثبت دارند. دفنسین‌های انسانی پپتیدهای کاتیونی با ۲۹ تا ۳۵ زیر واحد اسید آمینه دارای شش واحد سیستئین ثابت و دو یا سه پیوند دی‌سولفید بوده که موجب پایداری ساختارسه بعدی آن می‌گردند. آنها طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها مثل استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پنومونیه، E.coli، سود و موناس ائروجینوزا و هموفیوس آنفولانزا را نابود می‌کنند. نوتروفیل‌ها منابع غنی این پپتیدها بوده در حالی که منابع دیگری نیز وجود دارند. مثلاً سلول‌های پانت[1]، آنها را به داخل روده و سلول‌های اپی‌تلیال پانکراس و کلیه دفنسین‌ها[2] را به داخل سرم ترشح می‌کنند. به طور معمول دفنسین‌ها، میکرب‌ها را به سرعت و در عرض چند دقیقه می‌کشند حتی پپتیدهای ضد میکربی با سرعت عمل پایین نیز میکرب‌ها را طی ۹۰ دقیقه از بین می‌برند.

پپتیدهای ضد میکربی بیشتر با تخریب غشای میکرب‌ها عمل خود را انجام می‌دهند. اگرچه مکانیسم اصلی عملکرد آنها تخریب غشا می‌باشد ولی این پپتیدها موجب وقایع دیگری مانند مهار سنتزDNA، RNA و پروتئین‌ها و فعال کردن آنزیم‌های ضدمیکربی نیز می‌گردند. پپتیدهای ضد میکربی نه تنها به قارچ‌ها و باکتری‌ها حمله می‌کنند، بلکه نشان داده شده که لیپوپروتئین‌های پوشش برخی از ویروس‌ها مثل ویروس آنفولانزا و هر پس ویروس‌ها نیز، اهداف کارآمدی برای عملکرد آنها می‌باشند.

- پروتئین‌های پاسخ فاز حاد در ایمنی ذاتی شرکت دارند

در طی سال‌های ۱۹۲۰ تا ۱۹۳۰ (قبل از شناسایی آنتی‌بیوتیک‌ها) توجه زیادی به کنترل پنومونی ناشی از پنوموکوک می‌شد. محققان شاهد تغییراتی در غلظت چندین پروتئین سرمی

1-paneth cells
2-defensins

www.bbooks.ir

در طول فاز حاد بیماری بودند. این تغییرات سرمی،در مجموع پاسخ فاز حاد[1] (APR) خوانده می‌شوند؛ خصوصیات فیزیولوژیک بسیاری از پروتئین‌های فاز حاد[2] هنوز ناشناخته می‌باشند. اما می‌دانیم که برخی از آنها مانند اجزای سیستم کمپلمان و پروتئین واکنشگر C بخشی از پاسخ ایمنی ذاتی به عفونت می‌باشند. پاسخ فاز حاد از طریق پیام‌های تولید شده در جایگاه عفونت تحریک شده و از طریق گردش خون منتقل می‌گردند. کبد یکی از جایگاههای اصلی تولید پروتئین‌های APR می‌باشد و سایتوکاین‌های پیش التهابی TNF-α ، IL-1 و IL-6 پیام‌های اصلی مسئول القای پاسخ فاز حاد می‌باشند. تولید این سایتوکاین‌ها یکی از پاسخ های ابتدایی فاگوسیت‌ها می‌باشد.

پروتئین واکنشگر C به خانواده پروتئین‌های پنتامر به نام پنتراکسین‌ها[3] تعلق داشته که واکنش آن با بیگانه، به کلسیم وابسته می‌باشد. از میان لیگاندهای CRP می‌توان به پلی ساکاریدهای کپسول بسیاری از سویه‌های پنوموکوک و فسفوریل کولین موجود در سطح بسیاری از میکرب‌ها اشاره کرد. اتصال CRP به این لیگاندها موجب افزایش فاگوستیوز و فعال شدن حمله با واسطه کمپلمان می‌گردد. لکتین متصل شونده به مانور (MBL) پروتئین فاز حادی می‌باشد که الگوهای مولکولی حاوی مانند سطح میکرب‌ها را شناسایی کرده و با اتصال به آنها موجب هدایت حمله کمپلمان می‌گردد.

- ایمنی ذاتی از پذیرنده‌های گوناگونی جهت شناسایی پاتوژن استفاده می‌کند

تعدادی از مولکول‌های شناسایی کننده الگو شناسایی شده‌اند و چندین نمونه از آنها در جدول ۳-۳ آورده شده‌اند.

1-acute phase response
2-acute phase response proteins
3-pentraxins

www.bbooks.ir

TABLE 3-3 Receptors of the innate immune system

Receptor (location)	Target (source)	Effect of recognition
Complement (bloodstream, tissue fluids)	Microbial cell wall components	Complement activation, opsonization, lysis
Mannose-binding lectin (MBL) (bloodstream, tissue fluids)	Mannose-containing microbial carbohydrates (cell walls)	Complement activation, opsonization
C-reactive protein (CRP) (bloodstream, tissue fluids)	Phosphatidylcholine, pneumococcal polysaccharide (microbial membranes)	Complement activation, opsonization
Lipopolysaccharide (LPS) receptor;* LPS-binding protein (LBP) (bloodstream, tissue fluids)	Bacterial lipopolysaccharide (gram-negative bacterial cell walls)	Delivery to cell membrane
Toll-like receptors (cell surface or internal compartments)	Microbial components not found in hosts	Induces innate responses
NOD† family receptors (intracellular)	Bacterial cell wall components	Induces innate responses
Scavenger receptors (SRs) (cell membrane)	Many targets; gram-positive and gram-negative bacteria, apoptotic host cells	Induces phagocytosis or endocytosis

* LPS is bound at the cell membrane by a complex of proteins that includes CD14, MD-2, and a TLR (usually TLR4).
† *N*ucleotide-binding *o*ligomerization *d*omain.

شاید پذیرنده‌های شبه Toll مهمترین آنها باشند. سایر آنها پروتئین‌های محلول در گردش می‌باشند که درخون و مایعات بافتی حضور دارند یا پروتئین‌های غشایی روی سطح ماکروفاژها ، نوتروفیل‌ها و سلول‌های دندریتیک هستند. MBL و CRP پذیرنده‌های شناسایی کننده الگو بوده که به سطح میکرب‌ها متصل شده و فاگوستیوز آنها را افزایش داده یا آنها را به اهدافی جهت لیز با واسطهٔ کمپلمان تبدیل می‌کنند. یکی از پذیرنده‌های محلول سیستم ایمنی ذاتی، پروتئین متصل شونده به LPS(LBP) هنوز یکی از مهم‌ترین بخش‌های سیستم شناسایی و پیام‌رسانی در پاسخ به LPSباکتری‌های گرم منفی می‌باشد. پروتئین‌های NOD (دومین اولیگومریزه شونده متصل به نوکلئوتید) جزو گروهی از پذیرنده‌ها بوده که در ایمنی ذاتی نقش دارند. این پروتئین‌ها سیتوپلاسمی بوده و دو عضو از این خانواده (NOD1, NOD2) محصولات مشتق از پپتیدوگلیکان باکتری‌ها را شناسایی می‌کنند. NOD1 به تری پپتید ناشی از شکست پپتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت را شناسایی می‌کند. پذیرنده‌های شناسایی کننده الگو در غشا شامل پذیرنده‌های رفتگر[1] (SRs)نیز می‌باشند که بر اتصال و فاگوستیوز باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و همچنین فاگوستیوز سلول‌های آپوپتوتیک توسط ماکروفاژها و بسیاری از سلوهای دندریتیک نقش دارند.

1-scavenger receptors

www.bbooks.ir

- پذیرنده‌های شبه Toll

پروتئین Toll اولین بار طی دهۀ ۱۹۸۰ هنگامی که محققان آلمانی دریافتند که مگس‌های سرکه فاقد Toll نمی‌توانند به خوبی محور پشتی – شکمی را تشکیل دهند، مورد توجه قرار گرفت (Toll اشاره به مگس‌های جهش یافته‌ای دارد که آناتومی غیر معمول داشته و به زبان عامیانه آلمانی به معنای عجیب و غریب می‌باشد) . Toll یک پروتئین پذیرنده و پیام‌رسان می‌باشد؛ این مولکول‌ها در ایمنی ذاتی نقش داشته و با نام پذیرنده‌های شبه Toll (TLRs) شناخته می‌شوند. در سال ۱۹۹۶ جولزهافمن[1] و برونولمایتر[2] دریافتند که جهش در Toll، مگس‌های سرکه را مستعد ابتلا به عفونت‌های کشنده با آسپرژیلوس فومیگاتوس می‌کند (شکل ۸-۳).

شکل ۸-۳: عفونت قارچی شدید در یک مگس میوه با یک جهش در مسیر پیام رسانی ضروری جهت تولید پپتید ضد قارچی دروزومایسین.

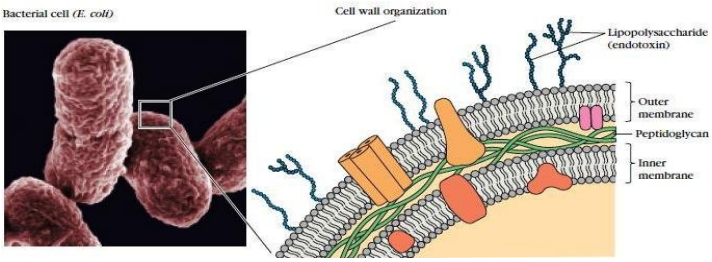
یک سال بعد در سال ۱۹۹۷ روسلان مدژیتوف[3] و چارلز جین‌وی[4] پروتئین انسانی Toll را کشف کردند که دومن سیتوپلاسمی آن با دومن سیتوپلاسمی Toll همسانی داشت. بعدها

1-Jules Hoffman
2-Bruno Lemaitre
3- Ruslan Medzhitov
4-Charles Janeway

www.bbooks.ir

این پروتئین انسانی TLR4 نامیده شد. این اولین شاهدی بود که یک مسیر پاسخ ایمنی در میان مگس‌های سرکه و انسان‌ها حفظ شده باقی مانده بودند. در سال ۱۹۹۸ با بررسی موش‌های جهش یافته مشخص گردید که TLRها بخشی از فیزیولوژی طبیعی ایمنی در پستانداران می‌باشند.

موش های هموزیگوت در جایگاه lps به لیپوپلی ساکارید مقاوم بودند؛ LPS با نام اندوتوکسین نیز شناخته می‌شود که در دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی حضور دارد (شکل ۹-۳).

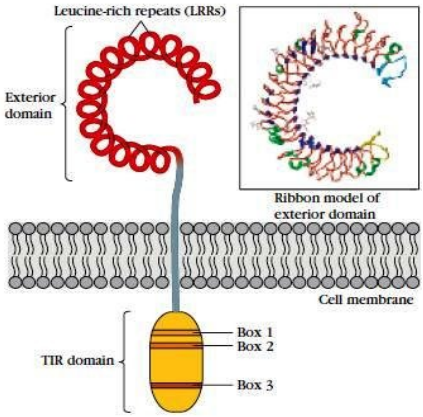


شکل ۹-۳: لیپوپلی ساکارید (LPS) در دیواره سلولی E.coli

در انسان، اندوتوکسین ناشی از عفونت شدید باکتریایی می‌تواند منجر به شوک سپتیک گردد. هر ساله تقریباً ۲۰۰۰۰ نفر در اثر شوک سپتیک ناشی از باکتری‌های گرم منفی جان خود را از دست می‌دهند، بنابراین قابل توجه است که برخی از سویه‌های جهش یافته موش به دوزهای کشنده LPS مقاوم می‌باشند. تعیین توالی DNA آشکار ساخت که ژن lps موشی یک شکل جهش یافته از پذیرنده شبه Toll (TLR4) را کد می‌کند که تنها در یک اسید آمینه با شکل طبیعی خود متفاوت می‌باشد. این بررسی به وضوح آشکار ساخت که TLR4 نقش مهمی در شناسایی LPS بازی می‌کند. در سال‌های اخیر بسیاری از محققان نشان داده‌اند که TLR های متعددی وجود دارند و تاکنون ۱۱ عضو انسانی و ۱۲ عضو موشی این خانواده کشف شده‌اند.

www.bbooks.ir

پذیرنده‌های شبه Toll جزو پروتئین‌های غشایی بوده که دارای یک دومن ساختمانی خارج سلولی با توالی‌های تکراری ۲۴ تا ۲۹ اسید آمینه‌ای می‌باشند. این توالی‌های ساختاری، توالی‌های غنی از لوسین[1] (LRRs) نام دارند (شکل ۱۰-۳).



شکل ۱۰-۳: ساختار یک پذیرنده شبه Toll. TLR یک ناحیه خارجی با توالی های تکراری غنی از لوسین (LRR) ، یک دومن داخل غشایی و یک دومن تحت عنوان TIR دارند. جایگاه اتصال به لیگاند در بین LRRها می باشد. دومن TIR با دومن های TIR سایر اعضای مسیر انتقال پیام TLR واکنش می دهد. سه توالی بسیار حفاظت شده از اسیدهای آمینه تحت عنوان جعبه های ۱، ۲ و۳ برای این واکنش ضروری بوده و مشخصه دومن های TIR می باشد.

تمام TLRها دارای چندین LRR بوده و بخشی از این LRRها، دومن اتصال به لیگانه TLR را تشکیل می‌دهند. دومن داخلی سلولی TLRها، دومن TIR (پذیرنده Toll/IL-1) خوانده می‌شود و اشاره به همسانی بین دومن‌های سیتوپلاسمی TLRها و معادن آن در پذیرنده IL-1دارد.

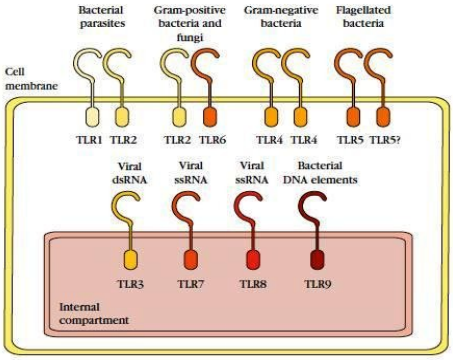
همان‌گونه که شکل ۱۰-۳ نشان می‌دهد، دومن TIR سه ناحیه داشته که در بین تمام اعضای خانواده TLRبسیار حفاظت شده می‌باشندو جعبه‌های ۱، ۲و ۳ نامیده می‌شوند. این

1-leucine reach repeats

www.bbooks.ir

جعبه‌ها به عنوان جایگاه اتصال پروتئین‌های داخل سلولی شرکت کننده در مسیرهای انتقال پیام TLRها عمل می‌کنند.

عملکرد ۹ عضو از TLR های انسانی شناخته شده است، به طوری که هر TLR، گنجینه‌ای متمایز از مولکول‌های بسیار حفاظت شده پاتوژن را شناسایی می‌کند. سری کامل TLR های موشی یا انسانی قادرند محدوده گسترده‌ای از ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و حتی برخی از بیروتوزوآها را شناسایی کنند. عملکرد ولیگاندهای TLRهای انسانی در شکل ۱۱-۳ مشخص شده است.



TLRs	Ligands	Target microbes
TLR1	Triacyl lipopeptides	Mycobacteria
TLR2	Peptidoglycans GPI-linked proteins Lipoproteins Zymosan	Gram-positive bacteria Trypanosomes Mycobacteria Yeasts and other fungi
TLR3	Double-stranded RNA (dsRNA)	Viruses
TLR4	LPS F-protein	Gram-negative bacteria Respiratory syncytial virus (RSV)
TLR5	Flagellin	Bacteria
TLR6	Diacyl lipopeptides Zymosan	Mycobacteria Yeasts and fungi
TLR7	Single-stranded RNA (ssRNA)	Viruses
TLR8	Single-stranded RNA (ssRNA)	Viruses
TLR9	CpG unmethylated dinucleotides Dinucleotides Herpesvirus infection	Bacterial DNA Some herpesviruses
TLR10,11	Unknown	Unknown

شکل ۱۱-۳: TLRها و لیگاندهای آن ها. TLR هایی که با لیگاندهای خارج سلولی واکنش می دهند در غشای پلاسمایی مستقر می باشند. TLR هایی که به لیگاندهای داخل سلولی متصل می شوند در غشاهای داخلی واقع شده اند. برخی از TLRها با TLRهای دیگر دایمرهایی تشکیل می دهند. TLR4 با خودش یا با TLR5 دایمر تشکیل می دهد. TLR های دیگر به صورت مونومر یا دایمر عمل می کنند.

www.bbooks.ir

لیگاندهای TLRها، اجزای ضروری پاتوژن‌ها می‌باشند. مثلاً یک ویروس نمی‌تواند بدون اسیدنوکلئیک خود فعالیت کند، باکتری گرم منفی نمی‌تواند بدون دیواره‌های حاوی LPS ایجاد شود و قارچ‌ها می‌بایست پلی‌ساکارید زیموزان را در ترکیب دیواره سلولی خود به کاربرند. برای پاتوژن‌ها به سادگی این امکان وجود ندارد که شکل جهش یافته‌ای از ساختارهای ضروری خود را بیان کنند و از این طریق مانع از شناسایی توسط TLR ها شوند. همان‌گونه که شکل ۱۱-۳ نشان می‌دهد، TLRهایی که لیگاندهای خارج سلولی را شناسایی می‌کنند در سطح سلول‌ها قرار داشته، درحالی که آنهایی که لیگاندهای داخل سلولی راشناسایی می‌کنند (مثل RNA ویروسی یا قطعات DNA باکتریایی) در داخل سلول حضور دارند.

چندین پذیرنده شبه Tollمثل TLRهای ۱، ۲، ۴و ۶ به صورت دایمر عمل می‌کنند. TLR4 هومودایمر تشکیل داده و سایرین، با دیگر TLRها هترودایمر ایجاد می‌کنند. جفت‌های TLRهای ۳، ۷، ۸، ۹ هنوز یافت نشده‌اند و ممکن است به صورت منومر عمل کنند. برخی داده‌ها حاکی از آن هستند که TLR5نیز ممکن است به صورت هومودایمر باشد.

جفت شدن TLR ها، روی ویژگی آنها اثر می‌گذارد؛ TLR2 جفت شده با TLR6 به طیف وسیعی از مولکول‌های میکرب ها مثل پپتید و گلیکان، زیموزان و لیپوپپتید باکتری‌ها متصل می‌گردد، در حالی که TLR2جفت شده با TLR1لیپو پروتئین باکتریایی و برخی از پروتئین‌های سطحی ویژه انگل‌ها را شناسایی می‌کند. TLR5 فلاژلین را که ترکیب عمده ساختار تاژک باکتری‌ها می‌باشد را شناسایی می‌کند.

TLR3، RNA دو رشته‌ای (dsRNA) که پس از عفونت ویروسی در سلول‌ها نمایان می‌شود را شناسایی کرده و RNAتک‌رشته‌ای (ssRNA) لیگاندی برای TLR7 ، TLR8 می‌باشد. در نهایت ، TLR9 توالی سیتوزین غیر متیله متصل به گوانین (CGP) را در

www.bbooks.ir

DNA شناسایی کرده و پاسخ‌های مربوط به آن را راه‌اندازی می‌کند. چنین توالی‌های غیر متیله‌ای در DNA میکربی به وفور یافته شده و در DNA مهره‌داران بسیار نادر می‌باشد.

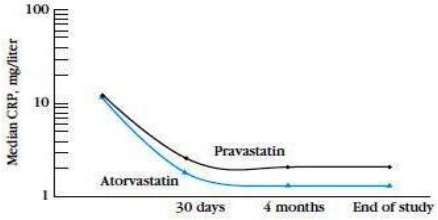
- تمرکز بالینی

CRP شاخص کلیدی خطرات قلبی – عروقی می‌باشد

بیماری‌های قلبی عروقی عامل اصلی مرگ در اروپا و آمریکا بوده و پس از بیماری‌های عفونی عامل عمده مرگ و میر در سراسر جهان می‌باشند. شایع‌ترین علت بیماری‌های قلبی – عروقی، تصلب شرایین می‌باشد که تجمعی پیش‌رونده از لیپیدها و عوامل رشته‌ای در شریان می‌باشد. تصلب شرایین بیماری پیچیده‌ای می‌باشد که هنوز کاملاً شناخته نشده است با این وجود، شواهد نشان می‌دهند که التهاب، عامل مهمی در پیشرفت تصلب شرایین می‌باشد. با بررسی جانورانی که با رژیم غذایی القا کننده تصلب شرایین تغذیه شده بودند و مقایسه دیواره عروق آنها با حیوانات کنترل ، برای اولین بار ارتباط میان التهاب و این بیماری را مطرح کرد. یافته‌های میکروسکوپی نشان می‌دادند که دیواره عروقی حیوانات کنترل فاقد لکوسیت بود، در حالی که لکوسیت‌های فراوانی به طور محکم به دیواره عروق حیوانات چسبیده بودند. بررسی‌های بیشتر نشان داد که لکوسیت‌ها نقش مهمی در شکل‌گیری پلاک‌های عروقی دارند. در مراحل ابتدایی بیماری، منوسیت‌ها به دیواره شریان‌ها چسبیده و پس از عبور از سلول‌های اندوتلیال به ماکروفاژ تمایز می‌یابند. پذیرنده‌های رفتگر ماکروفاژها، به ذرات لیپوپروتئین متصل می‌شوند و آنها را به درن می‌کشند و قطرات چربی در آنها تجمع یافته و ظاهری کف‌آلود به این سلول‌های می‌دهند. این ماکروفاژها، آنزیم‌های پروتئولیتیک ، سایتوکاین‌ها و واسطه‌های فعال اکسیژن (ROS) را ترشح می‌کنند. پروتئازها، ماتریکس خارج سلولی را به صورت موضعی تخریب کرده که این ماتریکس طی فرآیندهای ترمیمی دوباره ساخته می‌شود. سایتوکاین‌ها و ROS، التهاب را تشدید کرده، سلول‌ها و لیپیدهای بیشتری به پلاک‌های تازه تشکیل شده

www.bbooks.ir

اضافه می‌شوند که این امر موجب باریک شدن شریان گشته و آن را در معـرض انسـداد قرار می‌دهد. انسداد عروق قلب، انفارکتوس قلبی نامیده می‌شود. توقـف جریـان خـون در قلب بدلیل انسداد عروق، مانع از اکسیژن رسانی به عضله قلب می‌شود (حملـه قلبـی). در بسیاری از موارد، اولین حمله قلبی کشنده می‌باشد. بنـابراین، شناسـایی اشخاصـی کـه در معرض خطر اولین حمله قلبی هستند بسیار سودمند خواهد بود، به گونه‌ای که درمان‌های پیشگیرانه و تغییرات سبک زندگی در مورد آنها اعمال می‌گردد.



درمان با استاتین ها سبب کاهش CRP می شود.

ارتباط بین التهاب و تشکیل پلاک، محققان را بر آن داشت تا شاخص‌های التهابی را بـه عنوان پیش‌بینی کننده حوادث قلبی عروقی بررسی کنند. در یک بررسـی، میـزان چنـدین شاخص التهابی مثل IL-6 ، پذیـــرنده محلـول TNF-α و CRP در سـرم مـردان و زنـان اندازه‌گیری شد. علاوه بر شاخص‌های التهابی فوق، عامل خطر مشهور به نـام کلسـترول و شاخص‌های مرتبط با آن[1] (HDL, LDL) نیز بررسی شدند . سابقه پزشـکی بیمـاران نیـز طی دوره‌ای بررسی گردید و داده‌های مربوط به سابقه پزشکی و روش‌های زندگی کـه در زیر آمده و خطر بیماری قلبی را افزایش می‌دهند، مقایسه شدند:

- مصرف بالای الکل

۱- HDL (لیپوپروتئینباچگالی بالا) که اغلب به طور نادرستی، کلسترول خوب و LDL (لیپـوپروتئین باچگـالی پایین) که اغلب کلسترول بد خوانده می‌شود، ترکیبی از کلسترول و پـروتئین مـی‌باشـد. افـزایش LDL عامـل خطری برای بیماری قلبی عروقی می‌باشد.

www.bbooks.ir

- سیگار
- چاقی
- عدم فعالیت فیزیکی کافی
- فشار خون بالا
- دیابت

گروه‌ها به مدت ۶ تا ۸ سال بررسی شدند و میزان حملات قلبی کشنده و غیر کشنده ثبت گردید. از شاخص‌های التهابی مورد بررسی تنها CRP با خطر بالای بیماری عروق کرونر قلب ارتباط داشت. با مقایسه مقدار مورد انتظار CRP در بیماران با نسبت‌های مختلف (کلسترول تام بر کلسترول متصل بهHDL) مشخص شد که این شاخص التهابی با افزایش خطر ابتلا به بیماری در ارتباط می‌باشد.

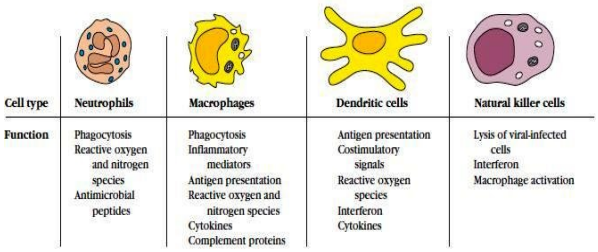
در دهه گذشته استفاده از داروهای کاهنده کلسترول با نام Statin ها رو به افزایش گذاشته است. این داروها سنتز کلسترول را سرکوب کرده و التهاب را نیز کاهش می‌دهند. محققان دریافته‌اند که تجویز استاتین‌ها سبب کاهش قابل توجهی در میزان CRP می‌شود. همچنین مشخص شده که در پی درمان با استاتین‌ها میزان CRP افراد تاحد ۲ میلی‌گرم در لیتر یا بیشتر، کاهش می‌یابد. میزان حمله قلبی در چننی افرادی به مراتب کمتر از بیمارانی می‌باشد که CRP بالاتر از ۲ میلی‌گرم در لیتر دارند.

شواهد مربوط به ارتباط میان بیماری قلبی و عروقی و التهاب، طی سالهای متمادی بدست آمده است. نظر به نقش بنیادی CRP به عنوان فاکتوری در ایمنی ذاتی، یافته‌های اخیر این فرضیه را به طور قوی اثبات می‌کنند که مقادیر CRP در ارزیابی خطر حملات قلبی بسیار مفید می‌باشد. مشخص شده است که درمان با استاتین که اساساً به منظور کاهش کلسترول به کار می‌رود، موجب کاهش مقدار CRP نیز می‌گردد و این یافته‌ها مؤید فرضیه ارتباط التهاب با بیماری قلبی – عروقی می‌باشند.

www.bbooks.ir

- انواع سلول‌های ایمنی ذاتی

بـه طـور معمـول، انـواع گونـاگونی از سـلول‌هـا در پاسـخ‌هـای ایمنـی ذاتـی شـرکت می‌کنند.نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها، منوسیت‌ها و سـلول‌هـای کشـنده طبیعـی بـازیگران اصـلی می‌باشند. نقش انواع سلول‌های دخیل درایمنی ذاتی در شکل ۱۲-۳ نشان داده شده است.



Cell type	Neutrophils	Macrophages	Dendritic cells	Natural killer cells
Function	Phagocytosis Reactive oxygen and nitrogen species Antimicrobial peptides	Phagocytosis Inflammatory mediators Antigen presentation Reactive oxygen and nitrogen species Cytokines Complement proteins	Antigen presentation Costimulatory signals Reactive oxygen species Interferon Cytokines	Lysis of viral-infected cells Interferon Macrophage activation

شکل ۱۲-۳: لکوسیت های اصلی ایمنی ذاتی

- نوتروفیل‌ها جهت فاگوستیوز و کشتار تخصصی یافته‌اند

نوتروفیل‌ها، اولین سلول‌های مهاجر از خون به جایگـاه عفونـت مـی‌باشـند و بـا ابزارهـای متنوعی برای مقابله با عوامل عفونی از راه می‌رسند. اگرچه فاگوستیوز ابزار اصلی نوتروفیـل علیه مهاجمان می‌باشد، مکانیسم‌های دیگری نیـز بـرای تحـت کنتـرل در آوردن و حـذف پاتوژن‌ها دارند. نوتروفیل‌ها پذیرنده‌های شبه Tollمختلفی را بر سطح خود عرضه می‌کننـد. TLR2 به آنها این امکان را می‌دهد تاپپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم مثبت را شناسایی کنند و TLR4 ، LPS باکتری‌های گرم منفی را شناسایی می‌کند. علاوه بـر TLRهـا ، PRPهـای دیگری نیز روی سطح نوتروفیل‌ها وجود دارند.

اگر چه نوتروفیل‌ها مستقیماً قادر به شناسایی پاتوژن می‌باشند ولی اتصال وفاگوستیوز آنها زمانی که باکتری‌ها با آنتی‌بادی یا اجزای کمپلمان یـا هـر دو نشـاندار مـی‌شـوند،بـه طـور چشمگیری افزایش می‌یابد. حتی در غیاب آنتی‌بادی‌های اختصاصی، پروتئین‌هـای کمپلمـان موجود در سرم می‌توانند به صورت قطعاتی روی سطح پـاتوژن‌هـا رسـوب کـرده و اتصـال نوتروفیل‌ها را تسهیل نمایند و در پی آن ، فاگوستیوز سریع‌تر صورت می‌گیرد.

www.bbooks.ir

دو ابزار ضد میکربی دیگر (حملات اکسیداتیو و غیر اکسیداتیو) در دفاع بسیار کارآمد و هماهنگ نوتروفیل‌ها،منوسیت‌ها و ماکروفاژها نقش دارند. بازوی اکسیداتیو، واسطه‌های فعال اکسیژن (ROS)و نیتروژن (RNS) را به خدمت می‌گیرد. ROS و RNS توسط مجموعه آنزیمی **NADPH فاگوزوم اکسیداز(Phox)** تولید می‌شوند. میکرب‌های فاگوسیت شده به داخل واکوئول‌هایی با نام فاگوزوم کشیده می‌شوند و در آنجا واسطه‌های فعال اکسیژن به عنوان میکرب‌کش استفاده می‌شوند. اکسیژن مورد استفاده توسط آنزیم Phox برای تولید ROS ، از فرآیند متابولیکی با نام **انفجار تنفسی**[1] تهیه می‌شود که طی آن برداشت اکسیژن توسط سلول چندین برابرمی‌گردد. ROSها شامل مخلوطی از **آنیون سوپراکسید (OS^-)**، **پراکسید هیدروژن (H_2O_2)** و **اسید هیپوکلرو (HOCl)** می‌باشند. با شروع روند فاگوسیتوز، NADPH اکسیداز فاگوزومی فعال شده و ROS، توسط نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها تولید می‌شوند. سپس این مجموعهٔ آنزیمی سوپراکسیدها را تولید می‌کند. (شکل ۱۳-۳). سایر واسطه‌های فعال اکسیژن از سوپراکسیدها مشتق می‌شوند.

همان‌گونه که شکل ۱۳-۳ نشان می‌دهد، میانکنش نیتریک اکساید با سوپراکسید، واسطه‌های فعال نتیروژن را تولید می‌کند. بنابراین، انفجار تنفسی هم در ساخت ROS و هم RNS شرکت دارد. اهمیت دفاع ضد میکربی NADPH اکسیداز فاگوزومی و محصولات مشتق از آن با افزایش قابل توجه استعداد ابتلا به عفونت‌های باکتریایی و قارچی در بیماران مبتلا **به بیماری گرانولوماتوز مزمن**[2] نشان داده شده است.

برخی پاتوژن‌ها مانند مخمر *کاندیدا آلبیکنس* و باکتری *استاف اورئوس*، تنها توسط حملات اکسیداتیو به صورت کامل کشته نمی‌شوند. دفاع غیر اکسیداتیو، ظرفیت دفاعی نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها را در برابر میکرب‌ها شدیداً افزایش می‌دهد. دفاع غیر اکسیداتیو با الحاق گرانول‌های نوتروفیل‌ها به فاگوزوم و اضافه نمودن پپتیدها و پروتئین‌های ضد

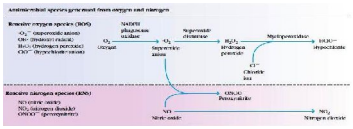
1-respiratory burst
2-chronic granulomatous disease

www.bbooks.ir

میکربی خود به آنها، صورت می‌پذیرد. یکی از پروتئین‌ها، پـروتئین بـاکتری کـش افـزایش دهنده نفوذپذیری (BPI) می‌باشد که ۵۵ کیلو دالتون بوده و با میل پیوندی بـالا بـه LPS دیواره باکتری‌های گرم منفی متصل شده و سبب تخریب غشای داخلی باکتری‌ها می‌گـردد. سایر عوامل گرانولی نوتروفیل‌ها شامل آنزیم‌هایی مثل پروتئازها و لیزوزیم‌ها می‌باشـند کـه سبب تخریب هیدرولیتیک اجزای ضروری ساختار میکـرب‌هـا مـی‌گردنـد. پپتیـدهای ضـد میکروبی شامل دفنسین‌ها و کاتلیسیدین‌ها بوده که پپتیدهایی کایتونی با فعالیت گسترده ضد میکربی می‌باشند.

- ماکروفاژها از چندین ابزار ضد پاتوژن بهره می‌گیرند

ماکروفاژهای در حال استراحت، با محرک‌های مختلفی فعال می‌شوند. TLR هـای سـطح ماکروفاژهـا، اجـزای میکربـی ماننـد LPS ،پپتیـدوگلیکان و فلاژلـین را شناسـایی کـرده و پذیرنده‌های سایتوکاین به عنوان بخشی از پاسخ التهابی، سایتوکاین‌های ترشح شده از سـایر سلول‌ها را شناسایی می‌کنند. فعالیت بیگانه‌خواری و توانایی کشتن میکرب‌های بلیعـده شـده در ماکروفاژهای فعال افزایش یافته و واسطه‌های التهابی را نیز ترشح می‌کنند. آنها همچنین مقادیر بالایی از MHC-II را عرضه می‌کنند. پاتوژن‌های بلعیده شده توسط ماکروفاژهـا نیـز توسط همان عوامل میکرب‌کشی که نوتروفیل‌ها از آن بهره می‌گیرند، به گونه‌ای کارآمد در فاگوزوم‌ها کشته می‌شوند. (شکل ۱۳-۳).



شکل ۱۳-۳: تولید واسطه های فعال اکسیژن و نیتروژن ضد میکربی. در نوتروفیل ها و ماکروفاژها واسطه های فعال اکسیژن و نیتروژن تولید شده که خاصیت ضد میکربی دارند. یکی از این محصولات آنیون سوپر اکساید می باشد که می تواند با یک واسطه نیتروژنی (RNS) واکنش داده و یک پراکسید نیتریت را به وجود آورد که خود RNS دیگری می باشد. NO نیز دچار اکسیداسیون شده و یک دی اکسید نیتروژن (NO2) را به وجود می آورد.

www.bbooks.ir

علاوه بر آن، جنگ‌افزارهای شیمیایی ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها به خوبی شناخته شده‌اند. در پی فعال شدن با واسطه پذیرنده‌هایی مثل TLRها و یا برخورد با سایتوکاین‌های مناسب، فاگوسیت‌ها مقادیر بالایی از **نیتریک اکساید سنتتاز القایی**[1] (iNOS)را بیان می‌کنند. این آنزیم با ترکیب کردن اکسیژن با L- آرژانتین ، نیتریک اکساید و L- سیترولین را به وجود می‌آورد.

$$\text{L-alginine+O2 +NADPH} \xrightarrow{\text{iNos}} \text{NO + L-citruline +NADP}$$

برای متمایز نمودن این آنزیم از سایر آنزیم‌های موجود در بدن را آنزیم NOS القایی می‌نامند.

نیتریک اکساید، فعالیت ضد میکربی قوی داشته و می‌تواند با سوپراکسید ترکیب شده و مواد ضد میکروبی قوی‌تری را ایجاد نماید. شواهد اخیر حاکی از آن است که نیتریک اکساید و مواد مشتق از آن، مسئول بیشتر فعالیت‌های ضد میکربی علیه باکتری‌ها، قارچ‌ها، انگل‌های کرمی و پروتوزوآها می‌باشند.

ماکروفاژها در کنار کشتار و پاکسازی پاتوژن‌ها، همچنین در ایجاد هماهنگی بین سلول‌ها و اعضای ایمنی نقش ایفا می‌کند.

آنها این اعمال را با ترشح سایتوکاین‌هایی مثل IL-1 ، TNF-α و IL-6 انجام می‌دهند. این سایتوکاین‌ها نقش عمده‌ای در تقویت پاسخ‌های التهابی بر عهده دارند. IL-1 لنفوسیت‌ها را فعال می‌کند. IL-1 ، IL-6 و TNF-α با اثر روی مرکز تنظیم دما در هیپوتالاموس موجب تب می‌شوند. این سایتوکاین‌ها همچنین سبب افزایش پاسخ‌های فاز حاد نیز می‌شود. ماکروفاژهای فعال،علاوه بر سایتوکاین‌ها،پروتئین‌های کمپلمان را نیز تولید می‌کنند که التهاب را تقویت نموده و در پاکسازی پاتوژن‌ها مشارکت دارند.

1-inducible nitric oxide synthetase

www.bbooks.ir

- سلول‌های NK یکی از مهم‌ترین خطوط دفاعی علیه ویروس‌ها بوده و پیام‌های کلیدی جهت فعال شدن سایر سلول‌ها را نیز فراهم می‌کنند.

سلول‌ها کشنده طبیعی (NK) اولین خط دفاعی علیه بسیاری از انواع عفونت‌های ویروسی می‌باشند. با بهره‌گیری از سیستم‌هایی که در فصل ۱۴ بحث خواهد شد، سلول‌های NK ، سلول‌های آلوده و غیر آلوده میزبان را شناسایی نموده و سلول‌های آلوده را که مخازن بالقوه ویروس‌ها هستند، از بین می‌برند. لیز با واسطه سلول‌هایNK به گونه‌ای کارآمد، عفونت را از بین برده و یا آن را تا چند روز بعد تحت کنترل نگه می‌دارد تا زمانی که سیستم ایمنی اکتسابی با سلول‌های Tc و یا آنتی‌بادی‌های اختصاصی ویروسی وارد عمل شود. با این وجود، برخی از عفونت‌های ویروسی به طور کامل توسط مکانیسم‌های ذاتی مثل سلول‌های NK، بدون کمک ایمنی اکتسابی پاکسازی می‌شوند. سلول‌های NKفعال ، همچنین توانایی تولید سایتوکاین‌های مختلفی را دارند که سایر سلول‌های سیستم ایمنی را تنظیم کرده و از این رو موجب شکل‌گیری و تقویت دفاع‌های کنونی و بعدی در برابر پاتوژن می‌گردد. سلول‌های MK ، دوسایتوکاین پرقدرت تنظیم کننده ایمنی (TNF-α , IFN-γ) را تولید می‌کنند. این دو سایتوکاین می‌توانند بلوغ سلول‌های دندریتیک را تحریک کرده و هماهنگ کننده‌های کلیدی ایمنی اکتسابی و ذاتی می‌باشند وIFN-γ واسطه قدرتمند فعال‌سازی ماکروفاژها و همچنین تنظیم کننده مهم تکوین سلول‌های T می‌باشد و ارتباط مستقیمی بین سلول‌های NK و سیستم ایمنی اکتسابی برقرار می‌کند.

- سلول‌های دندریتیک ، پاتوژن‌ها را به دام انداخته و با فعال‌سازی سلول‌های T، پاسخ‌های ایمنی اکتسابی را تحریک می‌کنند

میانکنش سلول‌های دندریتیک با سلول‌های T_H، Tc در مقایسه با سایر سلول‌های ایمنی ذاتی،ارتباط گسترده‌تری بین ایمنی ذاتی و اکتسابی برقرار می‌کنند. سلول‌های دندریتیک بالغ قادرند این سلول‌ها را فعال کنند زیرا می‌توانند آنتی‌ژن‌های بیگانه را در کنار

www.bbooks.ir

مولکول‌های MHC کلاس I و II عرضه کرده و همچنین پیام‌های کمک تحریکی قوی را به سلول‌های T منتقل کنند. همانند عوامل ایمنی ذاتی،سلول‌های دندریتیک نابالغ از PRRهای مختلفی (به خصوص TLRها) برای شناسایی پاتوژن‌ها استفاده می‌کنند. شناسایی سبب فعال شدن سلول‌های دندریتیک شده و این سلول‌ها متحمل فرآیند بلوغ شده که در طی آن، توانایی تولید مولکول‌های MHC-II و مولکول‌های کمک تحریکی افزایش می‌یابد. سپس، سلول‌های دندریتیک به بافت‌های لنفوئید مهاجرت کرده و در آنجا آنتی‌ژن را به سلول‌های T_H محدود به MHC-II و سلول‌های Tc محدود به MHC-I عرضه می‌کنند.

پاسخ سلول‌های دندریتیک تنها محدود به نقش حیاتی آنها در مرتبط ساختن ایمنی ذاتی و اکتسابی نمی‌باشد. این سلول‌های چندکاره به صورت مستقیم نیز به پاتوژن‌هایی که شناسایی کرده‌اند، حمله می‌کنند. سلول‌های دندریتیک قادرند ROS و NO تولید کنند و همچنین گزارش شده که قادر به ساختن پپتیدهای ضد میکربی نیز می‌باشند. پاتوژن‌های فاگوسیت شده توسط سلول‌های دندریتیک، بیشتر با همان عوامل مورد استفاده ماکروفاژها از بین می‌روند. به علاوه ، زیررده‌ای از سلول‌های دندریتیک به نام **سلول‌های دندریتیک پلاسماسایتوئید**[1]، توانایی تولید اینترفرون‌های نوع I را دارا می‌باشند. این خانواده سایتوکاین‌های ضد ویروسی، وضعیت نامناسبی را برای تکثیر ویروس در سلول‌های آلوده و سلول‌های مجاور ایجاد می‌کنند. مهم‌ترین عملکرد ویروس‌ها،بیان ژنوم خود در سلول‌های میزبان می‌باشد. اتصال TLR های سلول‌های دندریتیک پلاسماسایتوئید با اسید نوکلئیک بیگانه، تولید اینترفرون‌های نوع I را تحریک می‌کند. سایر زیر مجموعه‌های سلول‌های دندریتیک ، سایتوکارین‌های التهابی قدرتمند (IL-6, TNF-α , IL-12) را تولید می‌کنند. IL-12 در شکل‌گیری پاسخ‌های سلول T_Hدر ایمنی اکتسابی نقش مهمی بر عهده دارد.

1-plasmacytoid dendritic cells

www.bbooks.ir

- مسیرهای انتقال پیام

پذیرنده‌های سطحی سلول،پیام‌های آغازین فعال شدن پاسخ‌های سیستم ایمنی ذاتی را دریافت می‌کنند. قدم بعدی ، انتقال پیام‌ها به داخل سلول می‌باشد که یک موضوع عمومی در سیستم‌های زیستی بوده و در بسیاری از زمینه‌ها مثل ایمنی جای تحقیق دارد. پاسخ به پیام‌ها نیازمند سه عامل می‌باشد: خود پیام، یک پذیرنده و یک مسیر انتقال پیام که بین پذیرنده و مکانیسم‌های اجرایی ارتباط برقرار کند. این مسیر در شکل ۶-۱ به تصویر کشیده شده است.

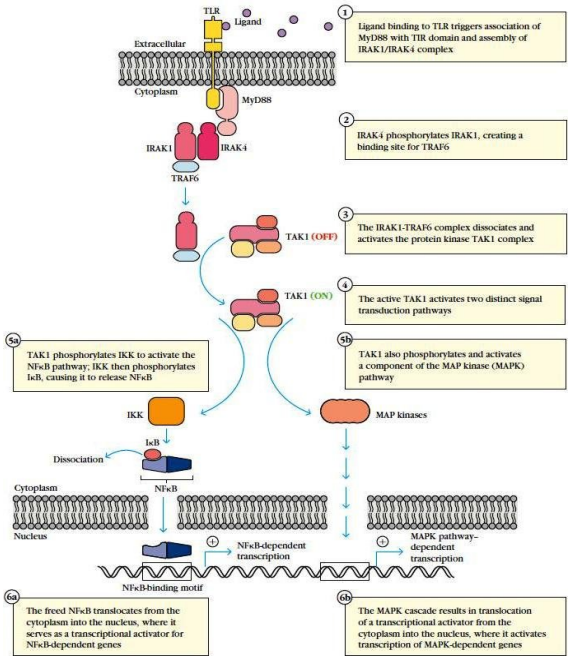
پیام ⟵ پذیره ⟵ انتقال پیام ⟵ مکانیسم اجرایی

در مورد ایمنی ذاتی، پیام، یک محصول میکربی و پذیرنده یک PRR سطح لکوسیت خواهد بود و انتقال پیام بواسطه میانکنش مولکول‌های داخل سلولی صورت می‌گیرد. مکانیسم‌های اجرایی ، منجر به پاکسازی ارگانیسم مهاجم می‌گردد. برخی از جنبه‌های مشترک مسیرهای انتقالی پیام در این جا خلاصه شده و به دنبال آن برای نمونه، انتقال پیام TLR ها آورده شده است.

- پیام‌رسانی TLRها، نمونه‌ای از مسیرهای انتقال پیام

TLR ها و نقش آنها در ایمنی ذاتی به تازگی کشف شده‌اند و مسیرهای انتقال پیام آنها تحت بررسی می‌باشند.

www.bbooks.ir



شکل ۱۴-۳: یک مسیر انتقال پیام TLR

MyD88: پروتئین پاسخ اولیه تمایز میلوئیدی ۸۸ IRAK: کیناز همراه پذیرنده IL-1

در اینجا مسیر پیام رسانی (شکل ۱۴-۳) بکار رفته توسط تعدادی از TLRها را بررسی می‌کنیم ،که می‌تواند توسط سایر پذیرنده‌های ایمنی ذاتی نیز (جدول ۳-۳) به کار رود با تمام آنها از یک طرح عمومی مشابه پیروی می‌کنند.

- آغاز شدن مسیر با میانکنش پیام و پذیرنده: محصولات میکربی به بخش خارجی سلول TLR متصل می‌گردند (شکل ۱-۳) . در سمت سیتوپلاسمی، یک دومن پروتئینی مجزا با توالی حفاظت شده TIR حضور دارد که در مولکول‌های دخیل در انتقال پیام در جانوران و گیاهان به چشم می‌خورد. دومن TIR جایگاه اتصال سایر اجزای مسیر می‌باشد.

www.bbooks.ir

- پیام القا شده توسط یک مولکول تطابقی، سبب تجمع اجزای مسیر می‌گردد: پروتئین‌های تطابقی خود دارای دومن‌های TIR بوده که با دومن‌های TIR پذیرنده‌های شبه Toll میانکنش می‌دهند. رایج‌ترین پروتئین تطابقی TLRها MyD88 می‌باشد که پیوند بین دو پروتئین کیناز IRAK1 و IRAK4 را تقویت می‌کند.
- فسفریلاسیون با واسطه پروتئین کنیاز: پروتئین کیناز IRAK4 موجود در مجموعه IRAK1:IRAK4 جفت خود (IRAK1) را فسفریله می‌کند. فسفاتی که به تازگی به IRAK1 اتصال یافته ،جایگاه لنگری برای TRAF6 فراهم می‌کند که با اتصال و جدا شدن ، مجموعه حد واسط IRAK1-TRAF6 را تشکیل می‌دهد. پروتئین کیناز دیگری به نامه TAK1 همراه با پروتئین‌های دیگری به این مجموعه ملحق شده و در پی آن ، عملکرد کنیازی TAK1 فعال می‌گردد.
- آغاز آبشار آنزیمی: TAK1 در این مسیر، حیاتی می‌باشد زیرا عملکرد پروتئین کنیازی آن، این امکان را فراهم می‌آورد تا دو مسیر انتقال پیام دیگر را به واسطه فسفریله کردن فعال نماید. یکی از مسیرها، مسیر MAP کیناز (پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوژن) و دیگری مسیر NF-kB می‌باشد. مسیرهای MAP کنیاز، آبشارهای آنزیمی انتقال پیام می‌باشند که در انواع سلول‌ها یافت شده و از مخمر تا انسان حفظ شده‌اند. محصول نهایی آبشار وارد هسته شده و موجب فسفریلاسیون یک یا چند فاکتور نسخه‌برداری می‌گردد که این فاکتورها روی چرخه سلولی یا تمایز سلولی تأثیر می‌گذارند.

فعال شدن مسیرهای انتقال پیام TLR، اثرات زیادی همچون افزایش بیان ژن‌های دخیل در التهاب و تغییر در سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن، به گونه‌ای که آنها را در عرضه آنتی‌ژن بسیار کارآمدتر می‌نماید و همچنین سبب تولید و صدور مولکول‌های پیام‌رسان درون سلول می‌شود که روی رفتار لکوسیت‌ها و سایر سلول‌ها تأثیر می‌گذارند. درگیری TLRها می‌تواند فعالیت بیگانه‌خواری ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها را افزایش داده و

www.bbooks.ir

فیزیولوژی آنها را به گونه‌ای تغییر دهد که توانایی کشتار و پاکسازی پاتوژن‌ها در آنها افزایش یابند. پیام‌رسانی TLR ها در بی‌مهره‌گان، عملکردهای گوناگون سیستم ایمنی را فعال می‌سازد. شکل ۱۴-۳ به طور شماتیک ، بیشتر مسیرهای انتقال پیام TLRها را نشان می‌دهد. TLR3 از مسیری مستقل از MyD88 استفاده می‌کند. TLR4 هم از مسیر توضیح داده شده در بالا و هم از مسیر مستقل از MyD88 استفاده می‌کند.

- وسعت ایمنی ذاتی

بررسی‌ها برای یافتن آنتی‌بادی،سلول B و T ، نشان می‌دهد که اثری از هیچ‌کدام از این ویژگی‌های ایمنی اکتسابی در راسته ارگانیسم‌های بی‌مهره وجود ندارد. علیرغم برتری سیستم ایمنی مهره‌داران، این نتیجه‌گیری اشتباه می‌باشد که برای یک ایمنی کارآمد تنها باید خیل عظیمی از این مولکول‌ها و سلول‌های چندکاره حضور داشته باشند. فضاهای درونی ارگانیسم‌هایی مثل Sea Squirt ، مگس سرکه و گوجه فرنگی عاری از جمعیت‌های میکربی می‌باشند. بررسی دقیق این ارگانیسم‌ها و بسیاری از سایر اعضای راسته بی‌مهره‌گان، سیستم‌های ایمنی، تمام ارگانیسم‌های پرسلولی را در برابر عفونت‌های میکربی محافظت می‌کنند. ژنوم Sea Squirt (شکل ۱۵a-۳) بسیاری از ژن‌های دخیل در ایمنی ذاتی شامل لکتین‌های شبه کمپلمان و پذیرنده‌های شبه Toll را کد می‌کند. در مگس سرکه، عفونت با باکتری‌های گرم منفی موجب به راه‌افتادن مسیر انتقال پیام می‌شود که در آن عضوی از خانواده NF-kB دخالت داشته و منجر به تولید یک پپتید ضد میکربی قدرتمند به نام دیپتریسین[1] می‌گردد. علاوه براین مسیرها،مگس سرکه وسایر بندپایان دارای روش‌های گوناگون ایمنی ذاتی می‌باشند که شامل فعال شدن آبشار پروفنول اکسیداز می‌باشد که منجر به رسوب ملانین اطراف ارگانیسم‌های مهاجم می‌گردد.

1-diptericin

www.bbooks.ir

شکل ۱۵-۳: پاسخ ایمنی در گونه های متفاوت (a) sea squirt (b) گوجه فرنگی

در گوجه فرنگی (شکل ۱۵b-۳) مانند سایر گیاهان، گنیجه‌ایی ازدفاع‌های ایمنی ذاتی برای حفاظت در برابر عفونت‌ها، تکامل یافته است. اینها شامل، انفجار تنفسی، افزایش PH درونی، مرگ ناحیه آلوده و القای پروتئین‌های گوناگون مثل آنزیم‌های هضم کننده دیواره قارچ‌ها (کیتینازها) یا باکتری مهاجم (α - ۱و۳ گلوکوناز) می‌باشند. همچنین گیاهان با تولید طیف گسترده‌ای از پپتیدهای ضد میکربی و مولکول‌های آلی کوچک غیر پپتیدی مثل فیتوالکسین‌ها که عملکرد آنتی‌بیوتیکی دارند به عفونت‌ها پاسخ می‌دهند. جهش‌هایی که سنتز فیتوالکسین‌ها[1] را مختل می‌کنند سبب فقدان مقاومت علیه بسیاری از پاتوژن‌های گیاهی می‌گردند. در برخی موارد، پاسخ گیاهان به پاتوژن‌ها حتی از حمله با واسطه عوامل شیمیایی هم فراتر رفته و شامل یک پاسخ ساختمانی می‌شود، به گونه‌ای که گیاه با افزایش استحکام دیواره سلول‌های مجاور، سلول‌های نواحی آلوده را قرنطینه می‌کند. جدول ۴-۳ قابلیت‌های سیستم ایمنی در طیف وسیعی از ارگانیسم‌های پرسلولی را با یکدیگر مقایسه می‌کند.

1-phytoalexins

www.bbooks.ir

- خلاصه

- دو سیستم ایمنی حفاظت مهره‌داران را برعهده دارند: ایمنی ذاتی که پیش ازعفونت برای فعال شدن آماده می‌باشد و ایمنی اکتسابی که توسط عفونت القا شده وبرای پاسخ دهی به روزها تا هفته‌ها زمان نیاز دارد.
- پذیرنده‌های ایمنی ذاتی،PAMP ها را شناسایی می‌کنند. در مقابل، پذیرنده‌های ایمنی اکتسابی ویژگی‌های جزئی‌تر ساختار مولکول را شناسایی می‌کنند.
- پذیرنده‌های ایمنی ذاتی در رده زایای میزبان کد می‌شوند اما ژن‌های کد کنندهٔ آنتی‌بادی و پذیرنده سلول T طی فرآیند بازآرایی ژنتیکی شکل می‌گیرند.
- پاسخ ایمنی اکتسابی بر خلاف پاسخ‌های ایمنی ذاتی، دارای خاطره می‌باشد.
- التهاب، با افزایش نفوذپذیری عروق به واسطه‌های محلول دفاعی مثل کمپلمان، MBL، CRP و سپس آنتی‌بادی‌ها اجازه می‌دهد که به جایگاه التهاب وارد شوند. به علاوه، التهاب با واسطه روندهای خروج ازرگ و کموتاکسی سبب مهاجرت فاگوسیت‌ها و سلول‌های ضد ویروسی به کانون عفونت می‌گردد.
- پپتیدهای ضد میکربی عوامل اجرایی مهم ایمنی ذاتی بوده و درطیف وسیعی از گونه‌ها یافت می‌شوند. این پپتیدها محدوده گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها را از بین می‌برند.
- سایتوکاین‌های بسیاری توسط سیستم ایمنی ذاتی تولید می‌شوند. این سایتوکاین‌ها شامل اینترفرون‌های نوع Iبا اثرات ضد ویروسی و INF-α و INF-γ با اثرات پرقدرت روی سایر سلول‌ها و بافت‌ها می‌باشند.
- برخی سایتوکاین‌ها پاسخ فاز حاد را تحریک می‌کنند. فرآیندی که طی آن چندین پروتئین ضد میکربی از کبد به گردش خون رها می‌شود. از جمله این پروتئین‌ها MBL ، CRP و کمپلمان می‌باشند که می‌توانند باعث کشتن میکرب‌ها شوند.
- سیستم ایمنی ذاتی از PRRها برای شناسایی عفونت بهره می‌گیرد. TLR ها گروه مهمی از PRRها می‌باشند. هر TLR مجموعه خاصی از پاتوژن‌ها را شناسایی می‌کند

www.bbooks.ir

وکل آنها می‌توانند طیف وسیعی از ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها و پروتوزوآها را مورد شناسایی قرار دهند.

- فاگوسیت‌ها از شیوه‌های گوناگونی برای کشتار پاتوژن‌ها استفاده می‌کنند. این شیوه‌ها شامل پروتئین‌های سایتولیتیک، پپتیدهای ضد میکربی و تولید ROS و RNS می‌باشند.
- سلول‌های دندریتیک همانند پلی بین ایمنی ذاتی و اکتسابی عمل می‌کنند. اجزای میکربی مورد نیاز برای پاسخ ذاتی، از جایگاه عفونت به غدد لنفاوی آورده شده و آنتی‌ژن‌های میکربی همراه مولکول‌های MHC به سلـــول‌های T عرضه می‌شوند.
- TLRها از مسیرهای انتقالی پیامی استفاده می‌کنند که در سلسله گیاهان و جانوران مشترک می‌باشند. وقایع اتفاق افتاده در پی انتقال پیام TLR، سلول‌ها را قادر می‌سازد تا عفونت‌ها را کنترل و پاکسازی نمایند.
- ایمنی ذاتی، در ابتدای مسیر تکاملی ارگانیسم‌های پر سلولی ظاهر شده و در تمام گیاهان و جانوران یافت شده است.

- سئوالات درسی

- سئوال تمرکز بالینی: تفسیری در مورد نقش فرآیندهای التهابی درایجاد و پیشرفت تصلب شرایین ارائه دهید. چگونه التهاب می‌تواند مسبب افزایش سطح CRP شود؟

۱- ایمنی ذاتی با ایمنی اکتسابی جهت حفاظت از میزبان همکاری می‌کند. این مشارکت را توضیح دهید و نقاط کلیدی در میانکنش بین این دو سیستم را نام ببرید.

۲- شاخص ویژه پاسخ التهابی موضعی چیست؟ چگونه این ویژگی در افزایش کارآیی پاسخ ایمنی ذاتی دخالت می‌کند؟

۳- از این فهرست برای تکمیل جملات بعدی استفاده کنید. برخی واژه‌ها ممکن است بیش از یک بار استفاده شوند.

www.bbooks.ir

اینترفرون	پپتیدهای ضد میکربی	NO	TLR8
TLR2	Phox	TNF-α	آنتی‌بادی
سلول‌های NK	PAMPS	TLR4	O_2
NOD	کمپلمان	مولکول‌های MHC-I	مولکول‌های MHC-II
فاگوستیوز	CRP	iNoS	پذیرنده‌های سلول T
مولکول‌های کمک تحریکی	ایمنی ذاتی	ایمنی تطابقی	APR
PRRs	ROS	RNS	TLR7
TLRs	سلول‌های دندریتیک	T_H	Tc
سایتوکاین‌های پیش‌التهابی	آرژینین	NADPH	MBL

الف) هم ---------- (یک سایتوکاین) و هم ---------- در دفاع علیه عفونت‌های ویروسی شرکت دارند.

ب)آنزیم ---------- از اسید آمینه -------- و --------- برای تولید ---- (یک گاز ضد میکربی) استفاده می‌کند.

پ) آنزیم ---------- از ---------- برای تولید ---------- کشنده میکرب‌ها که می‌تواند در ترکیب با گاز----------و---------- را تولید کند (که آن هم میکرب کش است) استفاده می‌کند.

ت)در طی پاسخ‌ذاتی سلولی به نام ---------- آنتی‌ژن را گرفته و آن را در کنار ---- -----و ---------- برای ارائه به سلول‌های ----------و ---------- عرضه می‌کند. در این حال سلول ---------- از بافت به غده لنفاوی مهاجرت کرده است.

ث --------- و ---------- پذیرنده‌های شناساگر الگو می‌باشند و می توانند کمپلمان را فعال کرده و سبب تسهیل اپسونیزاسیون شوند.

ج) -------- زمانی صورت می‌گیرد که --------- مانند --------- با التهاب تولید شده و به کبد می‌رسند.

www.bbooks.ir

چ) برخی از سلول‌ها از ---------- و ---------- برای شناسایی RNA ویروس استفاده می‌کنند و ------- عفونت‌های باکتریایی در برخی ویروس‌های DNA دار را شناسایی می‌کند.

ح) -------- پذیرنده‌های ایمنی ذاتی می‌باشند که توسط ردهٔ زایا کد می‌شوند. اما ---- ------ و --------- پذیرنده‌های ایمنی اکتسابی بوده و توسط ژن‌هایی که تحت نوترکیبی سوماتیک قرار گرفته‌اند، کد می‌شوند.

خ) سلول‌های دندریتیک که دارای ------- می‌باشند. می‌توانند آنتی‌ژن را روی ------ و --------- عرضه کنند. در نتیجه یک فعال کننده مناسب برای سلول‌های T_C و T_Hمحسوب می‌شود.

د) ------- یک ---------- درون سلولی است که اجزای دیواره سلولی باکتری را شناسایی می‌کند.

ذ) ---------- پذیرنده‌های ایمنی ذاتی هستند که ---------- را شناسایی می‌کنند.

ر) ---------- باکتری‌های گرم مثبت و --------- باکتری‌های گرم منفی را شناسایی می‌کنند.

ز) اجزای مشخص از دیواره سلولی میکرب‌ها می‌توانند ---------- را فعال کرده و اپسونیزاسیون را به راه انداخته و سبب تخریب غشای پلاسمایی میکرب‌ها گردند.

۴- دو مشاهده آزمایشگاهی که ارتباط بین TLRها و ایمنی ذاتی را مشخص کرد را نام ببرید.

۵- همان‌گونه که ایمنی ذاتی در مهره‌داران تکامل می‌یافت، سیستم‌های قدیمی ایمنی ذاتی حفظ می‌شدند. می‌توانید مضرات داشتن سیستم ایمنی دو تایی را تصور کنید؟ می‌تواند استدلال کنید که کدام سیستم ضروری تراست؟

www.bbooks.ir

۶- چطور بندپایانی مثل سوسک حمام (cock roach) و سوسک (beetle) می‌توانند در مقابل عفونت‌های قارچی از خود محافظت کنند؟ پاسخ‌های ایمنی یک بندپا را با انسان مقایسه کنید.

۷- درمان‌ها و یا تغییرات آزمایشگاهی نشان داده شده در جدول زیر چه اثر روی پاسخ‌های انسان یا موش‌هایی دارد که برای اولین بار با یک باکتری گرم مثبت آلوده می‌شوند؟ استدلال خود را بیان کنید.

Treatment or experimental modification	Induction of adaptive immunity	Leukocyte extravasation	Acute phase response	Induction of complement-mediated lysis	Induction of inflammation	ROS and RNS
a. Injection of antibodies that block integrin-ICAM interactions						
b. Knockout of the gene for TLR4						
c. Antibodies that neutralize TNF-α and IL-1						
d. Mutation in phox enzyme						
e. Mice with class II MHC gene knocked out						

Justifications for your predictions

a. _____

b. _____

c. _____

d. _____

e. _____

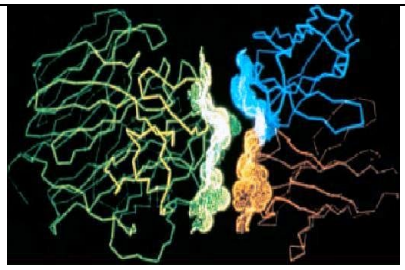
www.bbooks.ir

فصل چهارم

آنتی‌ژن و آنتی‌بادی

- ایمونوژنیسیته در برابر آنتی‌ژنیسیته
- اپی‌توپ‌ها
- اساس ساختار آنتی‌بادی‌ها
- جایگاه اتصال آنتی‌بادی
- اعمال اجرایی با واسطه آنتی‌بادی
- کلاس‌ها آنتی‌بادی و فعالیت‌های زیستی
- شاخص‌های آنتی‌ژنی ایمونوگلبولین‌ها
- پذیرنده‌های سلول B
- خانواده بزرگ ایمونوگلبولین
- آنتی‌بادی‌های منوکلونال

www.bbooks.ir



شاخص‌های مولکولی سیستم ایمنی اکتسابی، آنتی‌بادی و پذیرنده سلولT می‌باشند. اگرچه اجزای ایمنی ذاتی جهت شناسایی الگوها برنامه ریزی شده و بنابراین ترکیبات مشترک گروهی از مولکول های بیگانه را شناسایی می‌کنند اما مولکول‌های آنتی‌بادی و TCR، ویژگی بالایی داشته و شاخص آنتی‌ژنی یا اپی‌توپ‌ها را به طور اختصاصی شناسایی می‌کنند. اپی‌توپ‌ها، نواحی فعال یک ایمونوژن می‌باشند که به پذیرنده‌های ویژه آنتی‌ژن غشایی در سطح لنفوسیت‌ها یا به آنتی‌بادی‌ها ترشحی متصل می‌شوند. آنتی‌بادی‌ها پروتئین‌هایی متصل شونده به اپی‌توپ می باشند که به دو شکل غشایی و ترشحی حضور دارند. آنتی‌بادی غشایی، ویژگی آنتی‌ژنی را به سلول‌های B اعطا می کنند؛ میانکنش آنتی‌بادی غشایی با آنتی‌ژن، منجر به تکثیر کلون‌های سلولB ویژه آنتی‌ژن می‌شود. آنتی‌بادی‌های ترشحی در خون گردش می کنند و در آنجا نقش خویش را به عنوان عوامل اجرایی ایمنی هومورال ایفا می‌کنند. تمام آنتی‌بادی‌ها ساختارهای مشابهی داشته، به آنتی‌ژن متصل شده و در شمار محدودی از عملکردهای اجرایی شرکت می‌کنند. پذیرنده سلولT که بر روی سطح غشای سلول‌های T عرضه می‌شود، تنها قطعات پردازش شده به همراه مولکول‌های MHC را شناسایی می‌کنند.

- ایمونوژنیسیته در برابر آنتی‌ژنیسیته

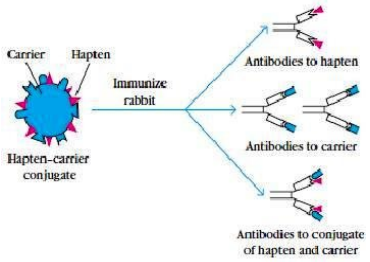
ایمونوژنیسیته و آنتی‌ژنیسیته به یکدیگر مرتبط می‌باشند اما ویژگی‌های ایمنی متمایزی دارند که بعضی اوقات گیج کننده می‌باشد. ایمونوژنیسیته توانایی القای پاسخ ایمنی هومورال

www.bbooks.ir

و سلولی می‌باشد. آنتی‌ژنیسیته توانایی ترکیب اختصاصی یک ماده با محصولات ناشی ازپاسخ ایمنی می‌باش. اگرچه تمام مولکول‌هایی که خاصیت ایمنی‌زایی دارند، خاصیت آنتی‌ژنیسیته را نیز دارا می‌باشند ولی عکس این امر صادق نمی‌باشد. برخی مولکول‌های کوچک(هاپتن) آنتی‌ژنیک بوده اما به تنهایی قادر به القای پاسخ ایمنی نمی‌باشند.

- هاپتن‌ها ابزاری ارزشمند برای تشخیص و تحقیق می‌باشند

ترکیب شیمیایی یک هاپتن با یک پروتئین بزرگ ایمنی‌زا به نام حامل، آلونژوگه هاپتن – حامل را به وجود می‌آورد. جانوران ایمن شده با چنین کونژوگه‌هایی، آنتی‌بادی‌های ویژه‌ای را علیه سه نوع شاخص آنتی‌ژنی تولید می‌کنند:۱- شاخص هاپتن ۲- اپی‌توپ‌های تغییر نیافته روی پروتئین حامل ۳- اپی‌توپ‌های جدیدی که از ترکیب هاپتن و حامل به وجود می‌آیند (شکل ۱-۴).



Injection with:	Antibodies formed:
Hapten (DNP)	None
Protein carrier (BSA)	Anti-BSA
Hapten-carrier conjugate (DNP-BSA)	Anti-DNP (major) Anti-BSA (minor) Anti-DNP/BSA (minor)

شکل ۱-۴: در این شکل کونژوگه هاپتن – حامل یک ایمونوژن می باشد و هاپتن آنتی ژنی است که به تنهایی ایمونوژن نمی باشد. ایمونوژن حاوی نسخه های متعددی از یک هاپتن می باشد که به طور شیمیایی به یک حامل پروتئینی مثل آلبومین سرم گاوی متصل می شود.

www.bbooks.ir

هاپتن می‌تواند از نظر شیمیایی دارای شاخص ویژه‌ای باشد که توسط روش‌های شیمیایی تغییر می‌یابد تا مشخص شود که آیا این عمل روی شناسایی آن توسط آنتی‌بادی اثر می‌گذارد یا خیر- تحقیقات اولیه در این زمینه توسط کارل‌لانداشتایز صورت گرفت که در دهه‌های ۱۹۲۰ و ۱۹۳۰ سیستمی شیمیایی و ساده برای بررسی اتصال یک آنتی‌بادی منحصر به فرد ایجاد نمود. لانداشتایز از مولکول‌های آلی کوچک به عنوان هاپتن استفاده نمود که آنتی‌ژنیک بودند ولی ایمونوژن نبودند. در این بررسی، لانداشتایز خرگوش‌ها را با یک کونژوگه هاپتن – حامل ایمن ساخت و سپس واکنش‌پذیری سرم ایمن شده خرگوش‌ها را با همان هاپتن و هاپتن‌های مرتبط در ترکیب با یک پروتئین حامل متفاوت آزمود. بنابراین او قادر بود به طور اختصاصی واکنش آنتی‌بادی‌های ضد هاپتن را در سرم ایمن شده سنجش نماید. لانداشتایز آزمایش کرد که آیا یک آنتی‌بادی ضدهاپتن می‌تواند به سایر هاپتن‌ها با تفاوت‌های بسیار جزئی در ساختار شیمیایی متصل شود یاخیر. اگر اتصال رخ دهد، واکنش متقاطع نامیده می‌شود. با استفاده از مشتقات آمنیونبزن به عنوان هاپتن، لانداشتایز دریافت که در تعیین واکنش با یک آنتی‌بادی، آرایش فضایی یک هاپتن، نقش اصلی را ایفا می‌کند. برای مثال، آنتی‌سرم خرگوش های ایمن شده با آمنیونبزن یایکی از مشتقات کربوکسیل آن (O-آمنیونبزوئیک اسید،m- آمنیونبزوئیک اسید یا p-آمنیونبزوئیک اسید)که با یک پروتئین حامل ترکیب شده است، تنها با هاپتن ایمن کننده اصلی واکنش می‌دهد و با هیچ‌کدام از هاپتن‌های دیگر واکنش متقاطع نمی‌دهد (جدول ۱-۴).

TABLE 4-1 Reactivity of antisera with various haptens

	REACTIVITY WITH			
Antiserum against	**Aminobenzene (aniline)**	***o*-Aminobenzoic acid**	***m*-Aminobenzoic acid**	***p*-Aminobenzoic acid**
Aminobenzene	+	0	0	0
o-Aminobenzoic acid	0	+	0	0
m-Aminobenzoic acid	0	0	+	0
p-Aminobenzoic acid	0	0	0	+

KEY: 0 = *no reactivity*; + = strong reactivity

SOURCE: Based on K. Landsteiner, 1962, *The Specificity of Serologic Reactions*, Dover Press. Modified by J. Klein, 1982, *Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination*, Wiley.

www.bbooks.ir

- خصوصیاتی از ایمنی‌زا که در ایمنی‌زایی دخیل می‌باشند

ایمونوژنیسیته تا حدودی توسط چهار خصوصیات ایمنی‌زا مشخص می‌شود: بیگانگی، اندازه مولکولی، ترکیب و پیچیدگی شیمیایی و توانایی پردازش و عرضه شدن توسط مولکول‌های MHC سطح یک APC یا سلول تغییر یافته خودی.

- بیگانگی

برای ایجاد یک پاسخ ایمنی، بایستی مولکول توسط سیستم زیستی به عنوان غیر خودی قلمداد شود. در مقابل شناسایی غیر خودی، تحمل به خود می‌باشد که با عدم پاسخ‌دهی به آنتی‌ژن‌های خودی مشخص می‌شود (فصل ۱۶). بیش‌تر توانایی تحمل به آنتی‌ژن‌های خودی در طی تکوین لنفوسیت و زماین که لنفوسیت‌های نابالغ با اجزای خودی مواجه می‌شوند، ایجاد می‌گردد. سلول‌هایی که اجزای خودی را طی این روند شناسایی می‌کنند، غیر فعال می‌شوند. آنتی‌ژن‌هایی که در طول این دوره به لنفوسیت‌های نابالغ عرضه نشده‌اند، ممکن است بعدها به عنوان غیرخودی شناخته شوند. هنگامی‌که آنتی‌ژن وارد یک ارگانیسم می‌شود، درجه ایمونوژنیسیته آن به میزان بیگانگی‌اش بستگی دارد. به طور کلی با افزایش فاصله فیلوژنی میان دو گونه، ناهمخوانی ساختاری و بنابراین اختلافات آنتی‌ژنی میان مولکول‌های تشکیل دهنده آنها بیشتر می‌شود.

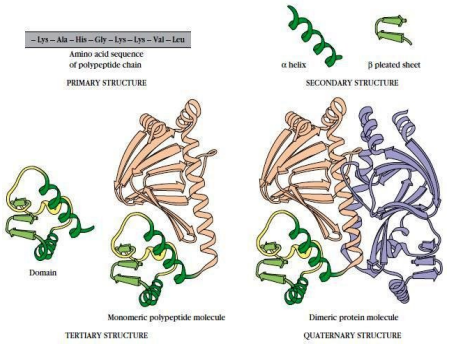
- اندازه مولکول

میان ایمونوژنیسیته و اندازه یک ماکرومولکول، همبستگی وجوددارد. فعال‌ترین ایمنی‌زاها، وزن مولکولی بیش از ۱۰۰۰۰۰ دالتون دارند. هر چند که اثبات شده که شمار اندکی از مواد با وزن مولکولی کمتر از ۱۰۰۰ دالتون نیز ایمنی‌زا می‌باشند، ولی به طور کلی موادی با وزن مولکولی ۱۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰ دالتون، ایمنی‌زاهای ضعیفی می‌باشند.

www.bbooks.ir

- ترکیب شیمیایی و غیر یکنواختی

اندازه و بیگانگی به تنهایی برای ایمنی‌زایی یک مولکول کافی نمی‌باشند؛ خصوصیات دیگری نیز مورد نیاز می‌باشند. برای نمونه، هموپلی‌مرهای مصنوعی بدون در نظر گرفتن اندازه‌شان، ایمنی زایی پایین دارند. عموماً هتروپلی‌مرها نسبت به هموپلی‌مرها، ایمنی‌زایی کمتری دارند. قابل توجه است که چهار سطح ساماندهی پروتئینی (اول، دوم، سوم، چهارم) به پیچیدگی ساختار پروتئین کمک می‌کنند و از این طریق روی ایمنی زایی آن اثر می‌گذارند (شکل ۲-۴).



شکل ۲-۴: چهار سطح سازمان یابی پروتئین

عرضه مناسب آنتی‌ژن‌های لیپیدی، می‌تواند سبب القای پاسخ سلول‌های B شود. برای نمونه، لیپیدها را می‌توان به عنوان هاپتن در اتصال به مولکول‌های حامل مناسب مثل پروتئین‌های هموسیانین صدف کوهی (KLH)یا سرم آلبومین گاوی (BSA) به کار برد. آنتی‌بادی‌های به دست آمده از ایمونیزاسیون توسط این کونژوگه‌های لیپید-پروتئین، برای لیپیدهای هدف بسیار اختصاصی می‌باشند. با استفاده از این راهکار، دانشمندان علیه طیف گسترده‌ای از مولکول‌های لیپیدی مثل استروئیدها، مشتقات اسیدهای چرب و ویتامین‌های محلول در چربی آنتی‌باید تولید کرده‌اند. چنین آنتی‌بادی‌هایی از اهمیت کاربردی قابل

www.bbooks.ir

توجهی برخوردار می‌باشند و بسیاری از آزمون‌های بالینی جهت تعیین حضور و میزان لیپیدها برای اساس می‌باشند.

- قابلیت آنتی‌ژن جهت پردازش و عرضه شدن

ایجاد هر دو نوع پاسخ ایمنی هومورال و سلولی نیازمند برهمکنش سلول T و آنتی‌ژن پردازش و عرضه شده همراه با مولکول‌های MHC می‌باشد. معمولاً ماکرومولکول‌های بزرگ نامحلول و تجمع یافته از مولکول‌های کوچک و محلول، ایمنی‌زایی بیشتری دارند، زیرا مولکول‌های بزرگ باسهولت بیشتری بیگانه‌خواری و پردازش می‌شوند. ماکرومولکول‌هایی که نمی‌توانند تخریب شده و همراه MHC عرضه شوند، ایمنی‌زاهای ضعیفی می‌باشند. این امر را می‌توان با پلیمرهایی از اسیدهای آمینه D نشان داد. بدلیل این که آنزیم‌های تخریب کننده در روند عرضه آنتی‌ژن، تنها قادر به تجزیه پروتئین‌های حاوی اسیدآمینه‌های L می‌باشند. پلیمرهای متشکل از اسیدهای آمینه D نمی‌توانند پردازش شوند و ایمنی‌زاهای ضعیفی می‌باشند.

- سیستم زیستی در ایمنی‌زایی دخیل می‌باشد

حتی اگر یک ماکرومولکول تمام خصوصیات دخیل در ایمونوژنیسیته را دارا باشد، توانایی القای پاسخ ایمنی به ویژگی‌های سیستم زیستی که آنتی‌ژن با آن مواجه می‌شود، بستگی خواهد داشت.

- ژنوتیپ جانور گیرنده

یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده پاسخ‌دهی می‌تواند ژنوتیپ گیرنده باشد. ساختار ژنتیکی یک جانور ایمن شده، روی نوع پاسخ ایمنی و درجه پاسخی که میزبان می‌دهد، تأثیر می‌گذارد. برای مثال مک‌دویت نشان داد که دو سویه متفاوت از موش‌های درون‌زا پس از

www.bbooks.ir

مواجهه با پلی‌پپتیـدهای مصـنوعی ایمنـی‌زا، پاسـخ‌هـای بسـیار متفـاوتی ایجـاد مـی‌کننـد. آزمایش‌های متعدد بر روی ایمنی‌زاهای شناخته شده مشخص کردند که پاسخ‌دهـی ایمنـی تحت کنترل ژنتیکی بوده و اغلب محدود به ژن‌های MHC می‌باشند. داده‌ها نشان می‌دهند که در یک حیوان، محصولات ژن MHC در تعیین میـزان پاسـخ‌دهـی بـه ایمنـی‌زا، نقـش محوری ایفا می‌کنند.

- دوز و روش ورود ایمنی‌زا

هر ایمنی‌زای آزمایشگاهی، یک منحنی پاسخ وابسته به دوز معین را نشان می‌دهد کـه بـا سنجش میزان پاسخ ایمنی به دوزها و روش‌های تزریق مختلف، تعیین می‌شود. دوز ناکـافی پاسخ ایمنی را تحریک نخواهد کرد، زیرا نمی‌تواند تعداد کافی لنفوسیت را فعال کنـد یـا در بعضی موارد به تحمل‌یابی پاسخی ایمنی می‌انجامد. برعکس، یک دوز بسیار بالا نیز می‌تواند سبب تحمل ایمنی گردد. پاسخ ایمنی موش‌ها به پلی‌سـاکارید خـالص کپسـول پنوموکـوک، اهمیت دوز را نشان می‌دهد. یک دوز ۰/۵mg از آنتی‌ژن نمی‌تواند درموش‌ها سـبب القـای پاسـخ ایمنـی شـود، در حـالی کـه یـک دوز ۱۰۰۰ برابـر کمتـر (۵×۱۰^{-۴}mg) از همـان آنتی‌ژن،سبب القای پاسخ هومورال می‌گردد.

معمولاً ایمنی‌زاهای آزمایشگاهی به صورت غیردهانی تجویز می‌شوند. روش‌هـای تزریقـی زیر رایج می‌باشند:

- داخل وریدی (IV)[1]
- داخل جلدی (ID)[2]
- زیر جلدی (SC)[3]

1-Intra-Venous
2-Intra-Dermal
3 -Sub Cutanous

www.bbooks.ir

- داخل عضلانی (IM) [1]
- داخل حفره صفاقی (IP)[2]

روش تزریق، نوع اندام‌های ایمنی و جمعیت سلولی که در پاسخ‌دهی درگیر خواهند شد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. آنتی‌ژن تزریق شده به صورت داخل وریدی، ابتدا به طحال منتقل می‌شود؛ در حالی که در تزریق زیر جلدی، آنتی‌ژن ابتدا به غدد لنفاوی موضعی می‌رود. تفاوت در سلول‌های لنفوئیدی ساکن در این اندام‌ها، پاسخ ایمنی بعدی را مشخص می‌کند.

- ادجوانت‌ها

ادجوانت‌ها از کلمه لاتین adjuvare به معنی یاری رساندن مشتق شده و موادی هستند که وقتی با یک آنتی‌ژن مخلوط شده و تزریق می‌شوند، سبب افزایش ایمنی‌زایی آنتی‌ژن می‌گردند. برای نمونه، در صورت تزریق BCA همراه با ادجوانت، پاسخ آنتی‌بادی موش‌ها تا ۵ برابر افزایش می‌یابد. چگونگی افزایش پاسخ ایمنی توسط ادجوانت، به طور دقیق مشخص نیست، اما برخی ادجوانت‌های معروف مثل ریبونوکلئوتیدهای مصنوعی و لیپوپلی ساکاریدهای باکتریایی به عنوان لیگاندهایی برای TLRهای سلول‌های دندرتیک ماکروفاژها شناخته می‌شوند؛ بنابراین از طریق فعال‌سازی سیستم ایمنی ذاتی، پاسخ ایمنی را تحریک می‌کنند.

در مجموع، ادجوانت‌ها یک یا بیش از یکی از تأثیرات زیر را اعمال می‌کنند:

- تداوم پایداری آنتی‌ژن
- افزایش پیام‌های کمک تحریکی
- افزایش التهاب موضعی
- تحریک تکثیر غیر اختصاصی لنفوسیت‌ها

1 -Intra-Mascular
2 -Intra-Peritoein

www.bbooks.ir

سولفات پتاسیم آلومینیوم (آلوم) ادجوانتی می‌باشد که پایداری آنتی‌ژن را تداوم بخشیده و تنها ادجوانت موردتأیید می‌باشد که به طور معمول برای انسان به کار می‌رود. ادجوانت‌های آب- روغن نیز پایداری آنتی‌ژن را تداوم می‌بخشند. ترکیبی معروف به ادجوانت ناقص فروند، حاوی آنتی‌ژن در محلول آبی(روغن معدنی) و یک عامل اموسیون کننده مانند Mannide monooleate می‌باشد که روغن را به صورت قطرات کوچکی که آنتی‌ژن را احاطه کرده‌اند، پراکنده می‌کند. این ترکیب برگرفته از ادجوانت کامل فروند (اولینادجوانت بسیار مؤثر فرمول‌بندی شده) می‌باشد که سالها قبل توسط جولز فروند توصیف شد و حاوی مایکوباکتریوم کشته شده با حرارت به عنوان یک ترکیب اضافی بود. مورامیل دی‌پپتید، سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها را فعال می‌کند. ترکیب ادجوانت کامل فروند بسیار قوی‌تر از ادجوانت ناقص فروند می‌باشد.

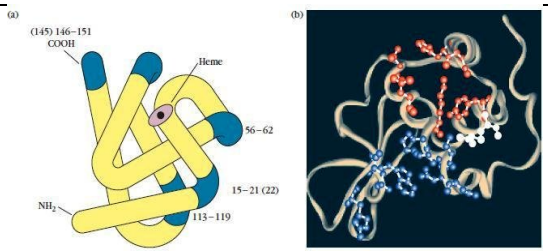
آلوم و ادجوانت فروند، یک پاسخ التهابی موضعی و مزمن را تحریک می‌کنند که سبب جذب لنفوسیت‌ها و بیگانه‌خوارها می‌شود. این ارتشاح سلول‌ها به جایگاه تزریق، اغلب منجر به تشکیل یک توده متراکم سلولی غنی از ماکروفاژ با نام گرانولوما می‌گردد.

- اپی‌توپ‌ها

سلول‌های ایمنی، کل مولکول ایمنی‌زا را شناسایی نکرده یا با آن برهمکنش نمی‌دهند؛ بلکه، لنفوسیت ها جایگاه‌های مجزا روی ماکرومولکول با نام اپی‌توپ را شناسایی می‌کنند. بررسی‌ها با آنتی‌ژن‌های کوچک، آشکار کرده است که سلول‌های B و T اپی‌توپ‌های متفاوتی را روی یک مولکول آنتی‌ژن شناسایی می‌کنند.

لنفوسیت‌ها علیه سطوح ساختای متفاوت یک آنتی‌ژن پیچیده پاسخ می‌دهند. اپی‌توپ‌های روی آنتی‌ژن پروتئینی ممکن است جزئی از ساختمان اول، دوم، سوم یا حتی چهارم پروتئین باشد (شکل ۳-۴).

www.bbooks.ir



شکل مروری ۳-۴: آنتی ژن های پروتئینی معمولاً حاوی اپی توپ های سلول B می باشند که ممکن است به صورت پیوسته و یا غیرپیوسته وجود داشته باشند.

در پلی‌ساکاریدها معمولاً شاخه‌های منشعبی وجود دارند که محل آنها ممکن است در آرایش فضایی اپی‌توپ‌ها دخیل باشد. سلول‌های B به دلیل شناسایی آنتی‌ژن‌های محلول، اپی‌توپ‌های سطحی مولکول آنتی‌ژن را مورد شناسایی قرار می‌دهند. اپی‌توپ‌های پروتئینی که توسط سلول‌های T شناسایی می‌شوند، پپتیدهای ناشی از تجزیه آنزیمی پروتئین‌های پاتوژن می‌باشند و تنها زمانی توسط TCRها شناسایی می‌شوند که همراه با MHC باشند. بنابراین، احتیاجی نیست که همانند اپی‌توپ‌های سلول B، قابل دسترسی باشند. جدول ۲-۴ تفاوت‌های عمده آنتی‌ژنیسیته سلول B و T را به طور خلاصه بیان می‌کند.

TABLE 4-2 Comparison of antigen recognition by T cells and B cells

Characteristic	B cells	T cells
Interaction with antigen	Involves binary complex of membrane Ig and Ag	Involves ternary complex of T-cell receptor, Ag, and MHC molecule
Binding of soluble antigen	Yes	No
Involvement of MHC molecules	None required	Required to display processed antigen
Chemical nature of antigens	Protein, polysaccharide, lipid	Mostly proteins, but some lipids and glycolipids presented on MHC-like molecules
Epitope properties	Accessible, hydrophilic, mobile peptides containing sequential or nonsequential amino acids	Internal linear peptides produced by processing of antigen and bound to MHC molecules

- خصوصیات ویژه اپی‌توپ‌های سلول B

معمولاً در پروتئین‌های طبیعی، اپی‌توپ‌های سلولB از اسیدهای آمینه آبدوست روی سطح پروتئین تشکیل شده‌اند. یک اپی‌توپ سلول B به منظور قابلیت اتصال به آنتی‌بادی

www.bbooks.ir

می‌بایست در دسترس باشد. معمولاً نواحی برآمده بر روی سطح پروتئین‌ها، شانس بیشتری دارند تا به عنوان اپی‌توپ شناخته شوند. توالی اسیدهای آمینه که در داخل پروتئین مخفی شده‌اند به طور غالب از اسیدهای آمینه آبگریز تشکیل شده که نمی‌توانند به عنوان اپی‌توپ‌های سلول B شناخته شوند.

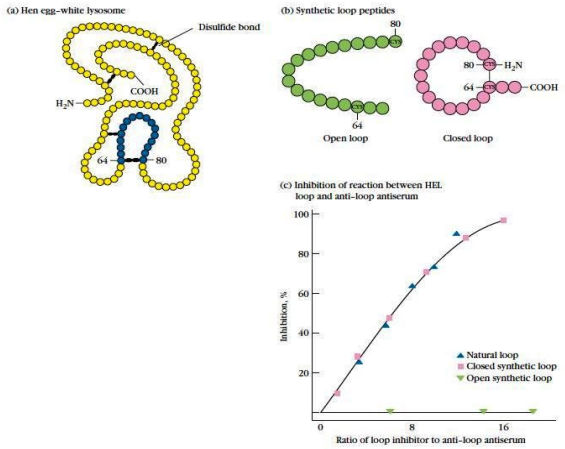
اپی‌توپ‌های سلول B ممکن است از زیرواحدهای متوالی پشت سرهم در طول زنجیره پلی‌پپتید یا زیر واحدهای غیر متوالی (که در نتیجه آرایش فضایی کنار هم قرار گرفته‌اند) تشکیل شده باشند. بیشتر این آنتی‌بادی‌های ایجاد شده علیه پروتئین‌های گروهی، تنها زمانی که پروتئین آرایش فضایی طبیعی خود را داراست به آن اتصال می‌یابند. آنتی‌بادی‌های ضد پروتئین‌های طبیعی نمی‌توانند به انواع دناتوره شده متصل شوند، زیرا دناتوره‌شدن چنین آنتی‌ژن‌هایی معمولاً ساختار اپی‌توپ‌های آن را تغییر می‌دهد.

در یک سری از آزمایش‌ها،۵ اپی‌توپ پیوسته متفاوت که هر کدام حاوی ۸-۶ اسیدآمینه پشت سرهم بودند در میوگلوبین اسپرم نهنگ یافت شد. هر کدام از این اپی‌توپ‌ها روی سطح مولکول و در محل خمیدگی نواحی مارپیچ α قرار داشتند (شکل ۳-۴). میوگلوبین اسپرم نهنگ حاوی چندین اپی‌توپ غیر پیوسته یا شاخص‌های فضایی نیز می‌باشد. زیرواحدهای تشکیل دهنده این اپی‌توپ‌ها، در توالی ابتدایی اسیدهای آمینه از یکدیگر بسیار دور می‌باشند اما در ساختار سوم مولکول به مجاورت یکدیگر می‌آیند. چنین اپی‌توپ‌هایی تنها زمانی حضور دارند که پروتئین به حالت آرایش فضایی طبیعی خود وجود داشته باشد. یکی از شناخته‌ترین اپی‌توپ‌های غیر پیوسته در HEL وجود دارد که درشکل ۳-۴ نشان داده شده است. اگر چه زیرواحدهای اسیدآمینه تشکیل دهنده این اپی‌توپ HEL در توالی ابتدایی اسیدهای آمینه بسیار دور از یکدیگر می‌باشند ولی در زمان تشکیل ساختار سوم پروتئین، آنها به مجاورت یکدیگر می‌آیند.

معمولاً زمانی که پروتئین دناتوره می‌شود، اپی‌توپ‌های پیوسته و غیر پیوسته به طور متفاوتی عمل می‌کنند. برای نمونه، از تکه‌تکه شدن مناسب میوگلوبین اسپرم نهنگ، پنج

www.bbooks.ir

قطعه بدست می‌آید که بوسیله آنتی‌بادی‌های متصل شونده به هر قطعه می‌توان نشان داد که هر کدام حاوی یک اپی‌توپ پیوسته می‌باشند (شکل ۴-۴).



شکل ۴-۴: اثبات آزمایشگاهی این که اتصال آنتی بادی به شاخص های فضایی لیزوزیم سفیده تخم مرغ (HEL) به پایداری ساختار سوم اپی توپ ها توسط پیوند های دی سولفید داخل زنجیره ای وابسته می باشد.

بسیاری از آنتی‌بادی‌های ضد HEL، چندین اپی‌توپ را شناسایی می‌کنند. اغلب این اپی‌توپ‌ها شاخص‌های فضایی بوده و وابسته به ساختار کلی پروتئین می‌باشند. اگر پیوندهای دی‌سولفید درون زنجیره‌ای HEL توسط مرکاپتواتانول احیا شود، اپی‌توپ‌های غیرپیوسته از بین می‌روند؛ به همین دلیل است که آنتی‌بادی ضد HEL طبیعی نمی‌تواند به HEL احیا شده اتصال یابد.

آزمون‌های مهاری در شکل ۴-۴ به زیبایی این موضوع را نشان می‌دهد. یک آنتی‌بادی بر ضد یک شاخص فضایی (یک حلقه پپتیدی موجود در HELطبیعی) تنها زمانی توانایی اتصال به اپی‌توپ را داراست که پیوند دی‌سولفید نگهدارنده ساختار حلقه، دست نخورده باقی مانده باشد. اطلاعات مربوط به نقش ساختاری جایگاه اتصال آنتی‌بادی، از بررسی توانایی اتصال ساختارهای مشابه آنتی‌ژن طبیعی به آنتی‌بادی به دست آمده است. اگر یک ساختار مشابه

www.bbooks.ir

حاوی اپی‌توپ‌های آنتی‌ژن طبیعی باشد می‌تواند به جایگاه اتصال آنتی‌بادی متصل شده و از این طریق مانع از اتصال آنتی‌ژن طبیعی به نی‌بادی گردد. در این آزمون مهاری، توانایی حلقه بسته برای مهار اتصال، نشان می‌دهد که حلقه بسته که توسط آنتی‌بادی ضد HEL شناسایی می‌شود به اندازه کافی شبیه به HEL می‌باشد. حتی اگر حلقه باز شده دارای همان توالی اسیدهای آمینه حلقه بسته باشد، فاقد اپی‌توپ‌های شناسایی شونده توسط آنتی‌بادی بوده و بنابراین قادر به مهار اتصال HEL نمی‌باشد (شکل ۴-۴).

- اساس ساختار آنتی‌بادی‌ها

شناسایی یک ایمنی‌زا توسط آنتی‌بادی‌های سطحی سلولB ، سبب تکثیر و تمایز آنها به سلول‌های Bخاطره‌ای وپلاسماسل‌ها می‌شود (فصل ۱۱). پلاسماسل‌ها مولکول‌های محلول آنتی‌بادی ویژه آنتی‌ژن را ترشح می‌کنند که مشابه با پذیرنده سطحی سلول B والد می‌باشند. بخش‌های بعدی، جنبه‌های ساختاری مولکول های آنتی‌بادی را توصیف می‌کند که به آنها امکان انجام دو عمل اصلی خویش را می‌دهد:

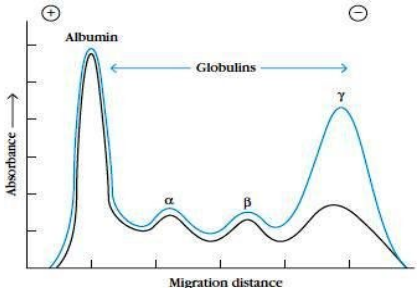
۱- اتصال به آنتی‌ژن‌های بیگانه که میزبان با آنها مواجه می‌شود.

۲- میانجی‌گری در اعمال اجرایی جهت خنثی‌سازی یا حذف مهاجمان بیگانه.

از اواخر قرن ۱۹ مشخص شد که جایگاه آنتی‌بادی، سرم می‌باشد. خون را می‌توان توسط سانتریفوژ به بخش مایع و بخش سلولی تقسیم کرد. بخش مایع، پلاسا و بخش سلولی حاوی گلبول‌های سفید، قرمز و پلاکت‌ها می‌باشد. پلاسما حاوی تمام مولکول‌های کوچک وماکرومولکول‌های محلول خونی مانند فیبرین می‌باشد. در صورت لخته شدن خون فاز مایع باقی مانده، سرم نامیده میشود. آزمایشات کلاسیک تیسلیوس و کابات نشان داد که آنتی‌بادی‌ها به بخش خاصی از پروتئین‌های سرم تعلق دارند. آنها خرگوش را با اووالبومین ایمن کردند، سرم را تهیه و آن را به دو قسمت مساوی تقسیم کردند. جداسازی الکتروفورزی یک قسمت از سرم، چهار بخش اصلی آلبومین، گلبولین‌های α، β و γ را در

www.bbooks.ir

سرم نشان می‌دهد. قسمت دیگر سرم با آنتی‌ژن ایمنی‌زا مجاور شد و به آن اجازه دادند تا رسوب ایمنی تشکیل گردد. این رسوب برداشته شد و پروتئین‌های باقیمانده سرم که با آنتی‌ژن واکنش نداده بودند، به جای ماندند. مقایسه الگوی الکتروفورزی این دو قسمت سرم، کاهش چشمگیری را در قلّه گاماگلبولین نشان می‌داد(شکل ۵-۴).



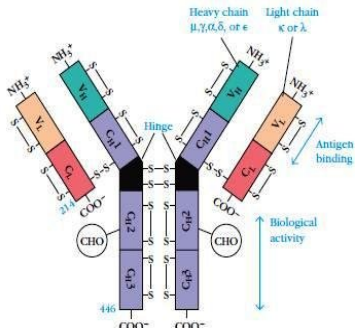
شکل ۵-۴: اثبات تجربی این که اکثر آنتی بادی های موجود در سرم در خانواده پروتئین های سرمی گاماگلبولین می باشند.

بنابراین بخش γ-گلبولین به عنوان بخش حاوی آنتی‌بادی‌های سرم شناخته شد و برای متمایز نمودن آنتی‌بادی‌ها از سایر پروتئین‌های موجود در بخش گاماگلبولین،آنها را ایمونوگلبولین نامیدند.

- آنتی‌بادی‌ها هترودایمر می‌باشند

مولکول های آنتی‌بادی از ساختار عمومی حاوی چهار زنجیره پپتیدی تشکیل یافته‌اند (شکل ۶-۴).

www.bbooks.ir



شکل ۶-۴: دیاگرام شماتیکی از ساختار Ig حاصل از آنالیز توالی اسید آمینه ها.

این ساختار از دو زنجیره سبک (L) مشابه (تقریباً ۳۲۰۰۰ دالتون) و دو زنجیره سنگین (H) مشابه (تقریباً ۵۵۰۰۰ دالتون یابیشتر) تشکیل شده است. برای تشکیل یک هترودایمر (H-L)، هر زنجیره‌ی سبک توسط اتصال دی‌سولفید و به وسیله برهمکنش غیر کووالان همچون اتصالالات نمکی، پیوندهای هیدروژنی و برهمکنش‌های آبگریز به یک زنجیره‌ی سنگین متصل می‌شود. مشابه این برهمکنش‌های غیرکووالان و پل‌های دی‌سولفید، دو زنجیره سبک وسنگین یکسان (H-L) را به یکدیگر متصل می‌کند تا ساختار پایه چهار زنجیره‌ای ۲(H-L) آنتی‌بادی تشکیل شود. همان‌گونه که خواهیم دید، تعداد دقیق و موقعیت‌های اتصالات دی‌سولفید متصل کننده دایمرها،درمیان رده‌ها و زیر رده‌های آنتی‌بادی متفاوت می‌باشند. ۱۱۰ اسیدآمینه ابتدای ناحیه پایانی آمینی زنجیره‌های سبک و سنگین، در میان آنتی‌بادی‌های متفاوت ویژه آنتی‌ژن، به شدت متغیر می‌باشد. این بخش از توالی بسیار متغیر، نواحی V خوانده می‌شوند. V_Lبرای زنجیره سبک و V_H برای زنجیره سنگین. ویژگی‌های متفاوتی که آنتی‌بادی‌ها ار خودنشان می‌دهند، از اختلافات توالی اسیدهای آمینه ناحیه V آنها منشأ می‌گیرند.

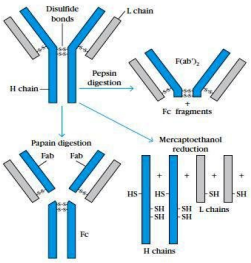
در حقیقت، بیشتر اختلافات میان آنتی‌بادی‌ها در میان مناطق از ناحیه V با نام ناحیه تعیین کننده مکمل (CDR) قرار دارند و همین CDRهای زنجیره‌های سبک و سنگین

www.bbooks.ir

می‌باشند که جایگاه اتصال به آنتی‌ژن را تشکیل می‌دهند. برعکس، در هر رده خاص از آنتی‌بادی تفاوت‌های بسیار اندکی دیده می‌شود. نواحی متشکل از توالی نسبتاً ثابت که پس از ناحیه متغیر قرار گرفته، نواحی C (C_L) برای زنجیره سبک و C_H برای زنجیره سنگین) نامیده می شوند. آنتی‌بادی‌ها گلیکوپروتئین بوده و جایگاه اتصال کربوهیدرات‌ها در اکثر مواقع، ناحیه ثابت می‌باشد. ما دقیقاً نقش گلیکولیزایون آنتی‌بادی را نمی‌دانیم، اما احتمالاً سبب افزایش حلالیت مولکول می‌گردد. گلیکولیزاسیون نامناسب یا فقدان آن در روی سرعت پاکسازی آنتی‌بادی ها از سرم تأثیر می‌گذارد و کارآیی برهمکنش میان آنتی‌بادی و سایر پروتئین‌ها را کاهش می‌دهد.

- روش‌های شیمیایی و آنزیمی، اساس ساختار آنی‌بادی را آشکار ساخت

دانش ما از اساس ساختار آنتی‌بادی، ناشی از مشاهدات تجربی گوناگون می‌باشد. در یک آزمایش کلیدی، هضم مختصر IgG با یک آنزیم پروتئولیتک با نام پاپایین منجر به تولید سه قطعه می‌شود که دو قطعه آن مشابه و قطعه سوم کاملاً متفاوت می‌باش (شکل ۷-۴).



شکل ۷-۴: ساختار IgG. ساختار زنجیره و اتصالات دی سولفیدی بین زنجیره ها نشان داده شده است. در این شکل قطعات حاصل از هضم آنزیمی پپسین و پاپایین و همچنین قطعات حاصل از شکست اتصالات دی سولفید توسط مرکاپتواتانول نشان داده شده است.

دو قطعه مشابه (هر کدام ۴۵۰۰۰ دالتون) وظیفه اتصال به آنتی‌ژن را برعهده داشته و قطعه متصل شونده به آنتی‌ژن (Fab) نامیده شدند. قطعه دیگر (۵۰۰۰۰ دالتون) ابداً

www.bbooks.ir

فعالیت اتصال به آنتی‌ژن را نشان نمی‌دادو به دلیل این که طی نگهداری در سرما به صورت کریستال در می‌آمد، قطعه قابل کریستال شدن (Fc) نامیده شد. هضم IgG با آنزیم‌های پروتئولیتیک مختلف (پپسین) دوباره نشان داد که خاصیت اتصال به آنتی‌ژن یک آنتی‌بادی می‌تواند از مابقی مولکول جدا گردد. هضم پپسین، تنها یک قطعه ۱۰۰۰۰۰ دالتونی را ایجاد می‌کند که از دو زیر واحد یکسان Fab تشکیل شده و به عنوان F(ad')2 شناخته می‌شود. در تیمار با آنزیم پپسین، قطعه Fc به دست نیامد، زیرا این قطعه به قطعات کوچک پپتیدی بی‌شماری هضم شده بود (شکل ۷-۴).

از خود آنتی‌بادی‌ها برای پی‌بردن به ارتباط میان محصولات هضم آنزیمی [Fc, F(ab')2, Fab] و زنجیره سنگین و سبک ناشی از احیا استفاده می‌شود. این پرسش با استفاده از آنتی‌سرم به دست آمده از بزهایی که با قطعات Fc,Fab مولکول IgG خرگوشی ایمن شده‌اند، پاسخ داده می‌شود. آنتی‌بادی ضد قطعه Fab می‌توانست با هر دو زنجیره L,H واکنش دهد، در حالی که آنتی‌بادی ضد قطعه Fc تنها با زنجیره H واکنش می‌داد. این مشاهدات منجر به این نتیجه‌گیری شد که قطعه Fab، از سنجش از زنجیره سنگین به اضافه کل زنجیره سبک و قطعه Fc تنها از زنجیره سنگین تشکیل شده است. از این نتایج و نتایجی که در بالا اشاره شد، ساختار IgG استنباط گردید (شکل ۶-۴). پلاسماسل‌ها در اشخاص طبیعی، سلول‌های درمرحله پایانی بوده که تنها یک نوع آنتی‌بادی را در یک دوره زمانی محدود ترشح کرده و سپس می‌میرند برعکس، یک کلون از پلاسماسل‌ها در اشخاص مبتلا به مولتیپل‌میلوما از کنترل طبیعی طول عمر خودخارج شده و تکثیر آنها از طریق تنظیم نشده و بدون نیاز به فعال‌سازی توسط القای آنتی‌ژنی ادامه می‌یابد. اگر چه چنین پلاسماسل‌های سرطانی (سلول میلوما) تغییرشکل یافته‌اند ولی ماشین سنتز پروتئین و اعمال ترشحی آنها تغییر نکرده‌اند؛ بنابراین سلول به ترشح مولکول‌های آنتی‌بادی همگن ادامه می‌دهد. این آنتی‌بادی تفاوتی با مولکول آنتی‌بادی طبیعی ندارد اما پروتئین میلوما خوانده شده که می‌تواند ۹۵٪ ایمونوگلبولین‌های سرم را به خود اختصاص دهد. همچنین در بسیاری

www.bbooks.ir

از بیماران، سلول‌های میلومایی مقادیر بالایی از زنجیره های سبک را ترشح می‌کنند. این مقادیر بالای زنجیره‌های سبک، برای اولین بار در ادرار بیماران میلومایی کشف شد و به اسم کاشفان آن، پروتئین‌های بنس- جونز نامیده شدند.

- توالی زنجیره‌های سبک، نواحی ثابت و متغیر را نشان می‌دهد

وقتی توالی اسیدهای آمینه چندین پروتئین بنس- جونز افراد متفاوت با هم مقایسه شدند، الگوی معنی‌داری مشخص گردید. انتهای آمینی نیمی از زنجیره (حدود ۱۰۰ تا ۱۱۰ اسیدآمینه) در پروتئین‌های بنس- جونز متفاوت، بسیار متغیر بود که این ناحیه، ناحیه متغیر (V) نامیده می‌شود. انتهای کربوکسیل نیمی از زنجیره سبک، ناحیه ثابت (C) خوانده می‌شود که یکی از دو توالی اسیدآمینه‌ای را داراست. این یافته منجر به شناخت دو نوع زنجیره شبک کاپا(K) و لامبدا (λ)گردید. در انسان ۶۰٪ زنجیره‌های سبک، کاپا و ۴۰٪ لامبدا می‌باشند، در حالی که ۹۵٪ زنجیره‌های سبک در موش از نوع کاپا و تنها ۵٪ لامبدا می‌باشند. یک مولکول آنتی‌بادی طبیعی، حاوی تنها یک نوع زنجیره سبک (کاپا و لامبدا) می‌باشد.

- پنج رده عمده از زنجیره‌های سنگین وجوددارد

برای تحلیل توالی زنجیره سنگین، پروتئین‌های میلومایی با مرکاپتواتانول و آلکیلاسیون احیا شدند و سپس زنجیره‌های سنگین در یک محلول دناتوره کننده بوسیله ژل فیلتراسیون جداشدند. وقتی توالی اسیدهای آمینه چندین پروتئین زنجیره سنگین میلومایی با هم مقایسه شدند، الگوی معنی‌داری آشکار شد. بخشی از پایانه آمینی زنجیره (۱۰۰ تا ۱۱۰ اسید آمینه) تغییر توالی بالایی در میان زنجیره‌های سنگین میلوماها نشان می‌داد و بنابراین ناحیه متغیر (V) نامیده شد. بخش باقیمانده پروتئین، پنج الگوی توالی مطابق با پنج ناحیه ثابت زنجیره سنگین (CH) متفاوتα،ε،δ،μ ۳۳۰ اسید آمینه و برای ε و μ ۴۴۰ اسید آمینه

www.bbooks.ir

می‌باشد. زنجیره سنگین یک مولکول آنتی‌بادی تعیین کننده رده آنتی‌بادی: IgM(μ) ، IgD(δ) ، IgG(γ) ، IgA(α) و IgE(ε) می‌باشد. زنجیره سنگین هر رده می‌تواند با هریک از زنجیره‌های سبک k یا λ جفت شود. یک مولکول آنتی‌بادی حاوی دو زنجیره سنگین مشابه و دو زنجیره سبک مشابه (H2L2) یا چندین عدد از این ساختار چهار زنجیره‌ای پایه می‌باشد (جدول ۳-۴).

TABLE 4-3 Chain composition of the five immunoglobulin classes in humans

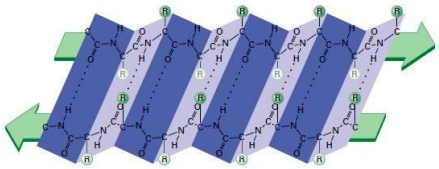
Class	Heavy chain	Subclasses	Light chain	Molecular formula
IgG	γ	γ1, γ2, γ3, γ4	κ or λ	$\gamma_2\kappa_2$ $\gamma_2\lambda_2$
IgM	μ	None	κ or λ	$(\mu_2\kappa_2)_n$ $(\mu_2\lambda_2)_n$ n = 1 or 5
IgA	α	α1, α2	κ or λ	$(\alpha_2\kappa_2)_n$ $(\alpha_2\lambda_2)_n$ n = 1, 2, 3, or 4
IgE	ε	None	κ or λ	$\epsilon_2\kappa_2$ $\epsilon_2\lambda_2$
IgD	δ	None	κ or λ	$\delta_2\kappa_2$ $\delta_2\lambda_2$

تفاوت‌های ناچیز در توالی اسیدهای آمینه زنجیره‌های سنگین α و γ منجربه طبقه‌بندی زنجیره‌های سنگین به صورت زیر رده می‌شود. در انسان دو زیر ایزوتایپ از زنجیره سنگین α به نام‌های α1 و α2 (IgA1, IgA2) و چهار زیر ایزوتایپ از زنجیره سنگین γ به نام‌های γ1 (IgG1)، γ2 (IgG2)، γ3 (IgG3)، γ4 (IgG4) وجود دارد. زیررده‌های متناظر IgG در موش، IgG1 ، IgG2 ، IgG2a ، IgG2b و IgG3 می‌باشند.

- براساس چین‌خوردگی‌ها، ایمونوگلبولین‌ها حاویچندین دومن می‌باشند

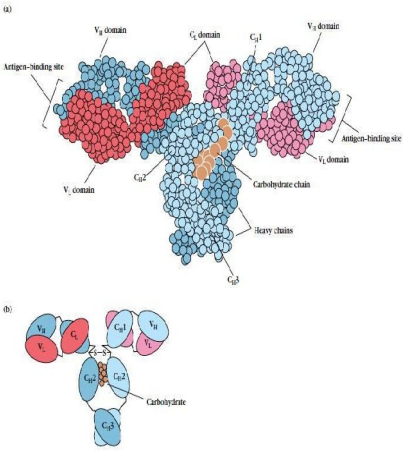
ساختار کلی مولکول ایمونوگلبولین توسط ساماندهی ساختار اول، دوم، سوم و چهارم پروتئین تعیین می‌شود. ساختار اول از توالی اسیدآمینه‌ای زنجیره های سبک و سنگین تشکیل می‌شود. ساختار دوم با چین‌خوردگی بیشتر زنجیره پلی‌پپتیدی روی خودش و تشکیل مجموعه‌ای از صفات چین خورده β موازی و ناهمسو ایجاد می‌گردد(شکل ۸-۴).

www.bbooks.ir



شکل ۸-۴: ساختار یک صفحه β که حاوی دو رشته β موازی و ناهمسو می باشد. این ساختار توسط اتصالات هیدروژنی بین اتصالات پپتیدی زنجیره های پلی پپتیدی مجاور پایدار می شود. گروه های جانبی اسیدهای آمینه (R) به صورت ردیفی در صفحه β قرار گرفته اند.

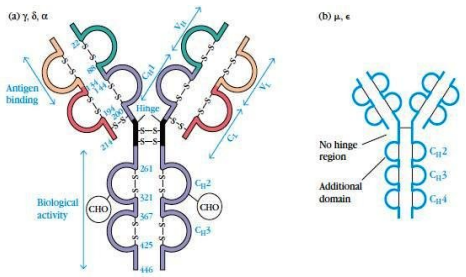
سپس زنجیره‌ها به ساختار سوم دومن‌های کروی متراکم، چین خوردگی پیدا می‌کنند؛ دومن‌های مجاور توسط امتدادی از زنجیره پلی‌پپتیدی میان نواحی صفحات چین خورده β به یکدیگر متصل می‌شوند. در نهایت، در ساختار چهارم، دومن‌های کرومی زنجیره‌های پلی-پپتیدی سبک و سنگین مجاور با یکدیگر واکنش می‌دهند (شکل ۹-۴) و دومن‌های کارآمدی را به وجود می‌آورند.



شکل ۹-۴: دو شمای کلی از یک مولکول آنتی بادی طبیعی. (a) مدلی از یک مولکول ایمونوگلبولین بر حسب آنالیز کریستالوگرافی اشعه x که ارتباط بین حوزه ها را در زنجیره های مختلف یک مولکول Ig نشان می دهد. (b) دیاگرام شماتیکی از واکنش دومن های زنجیره های سبک و سنگین.

www.bbooks.ir

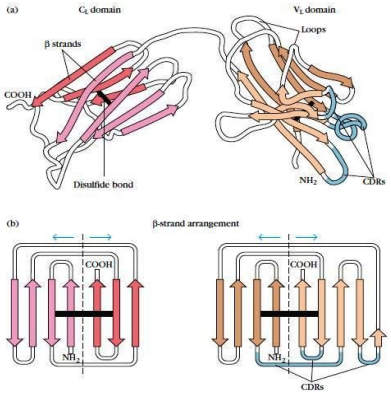
تحلیل دقیق توالی‌های اسید آمینه زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلبولین نشان می‌دهد که هر دو زنجیره حاوی چندین واحد همسان متشکل از ۱۱۰ اسید آمینه می‌باشند. در میان هر واحد (دومن) یک پیوند دی‌سولفید داخل زنجیره‌ای، یک حلقه تقریباً ۶۰ اسید آمینه را می‌سازد. زنجیره‌های سبک حاوی یک دومن متغیر (V_L) ویک دومن ثابت (C_L) می‌باشند؛ زنجیره‌های سنگین حاوی یک دومن متغیر (V_H) و سه یا چهار دومن ثابت C_H1، C_H2، C_H3، C_H4 بسته به رده آنتی‌بادی می‌باشند (شکل ۱۰-۴).



شکل ۱۰-۴: (a) زنجیره های سبک و سنگین به صورت حوزه های چین خورده می باشند که هر یک دارای ۱۱۰ بنیان اسیدآمینه و یک اتصال دی سولفید بین زنجیره ای می باشند که یک حلقه حاوی ۶۰ اسیدآمینه را به وجود می آورند. (b) زنجیره های سنگین ε و μ دارای حوزه دیگری بوده که در ناحیه لولا واقع شده است.

تحلیل بلورنگاری اشعه x نشان می‌دهد که دومن‌های ایمونوگلبولین به ساختار متراکم خاصی با نام چین ایمونوگلبولین، چین‌خوردگی پیدا می‌کنند. این ساختار حاوی یک «ساندویچ» از دو صفحه چین‌خورده β می‌باشند که توسط حلقه‌هایی باطول‌های متفاوت به یکدیگر متصل می‌شوند(شکل ۱۱-۴).

www.bbooks.ir



شکل ۱۱-۴: (a) دیاگرامی از زنجیره سنگین Ig که ساختار چین خوردگی دومن های متغیر و ثابت را نشان می دهد. (b) ساختار باز شده صفحات β، ارتباط بین رشته های β و حلقه های اتصالی را نشان می دهد. توجه کنید که دومن ثابت، دو رشته β بیش تر دارد.

رشته‌های β در یک صفحه، توسط پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های آمین یک رشته و گروه های کربوکسیل رشته مجاور پایدار می‌شوند (شکل ۸-۴). یکی از خصوصیات رشته‌های β قرارگیری متناوب اسیدهای آمینه آبدوست و آبگریز می‌باشد، به گونه‌ای که زنجیره جانبی این اسیدهای آمینه به طور عمود به صفحه قرار گرفته‌اند؛ اسیدهای آمینه آبگریز به سمت داخل ساندویچ و اسیدهای آمینه آبدوست به سمت خارج آن قرار می‌گیرند. در صفحه β داخل یک چین ایمونوگلبولین توسط برهمکنش‌های آبگریز میان آنها و همچنین توسط یک پیوند دی‌سولفید حفاظت شده، پایدار می‌گردند.

اگر چه دومن‌های ثابت ومتغیر، ساختار مشابهی دارند اما تفاوت‌های ناچیری بین آنها وجود دارد. توالی دومنV به میزان بسیار اندکی از دومن C بلندتر بوده و حاوی یک جفت رشته β اضافی درمیان ساختار صفحه β می‌باشد؛ همچنین حاوی یک توالی حلقه اضافی می‌باشد که این جفت رشته β را به یکدیگر متصل می‌کند (شکل ۱۱-۴).

www.bbooks.ir

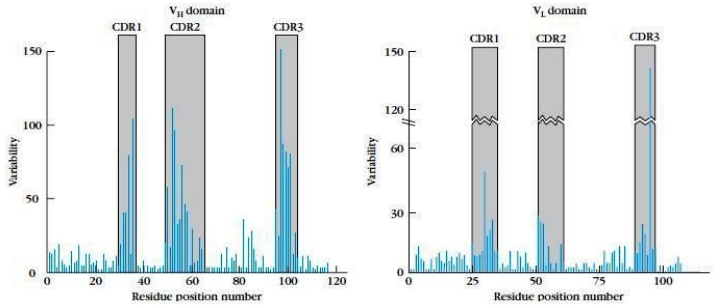
- جایگاه اتصال آنتی‌بادی

مولکول‌های آنتی‌بادی دو نقش برعهده دارند. اتصال بـه آنتـی‌ژن و میـانجی‌گـری اعمـال اجرایی. اتصال به آنتـی‌ژن توسـط بخـش انتهـای آمینـی و اعمـال اجرایـی توسـط انتهـای کربوکسیل انجام می‌گیرد. خصوصیات ساختاری مرتبط با این اعمال در بخـش‌هـای بعـدی توصیف می‌شوند. با مقایسه دقیق توالی اسیدهای آمینه شمار بسـیاری از دومـن‌هـای V_H و V_L مشخص شده که تغییراتی در توالی‌ها به صـورت مجـزا و در نـواحی محـدودی از ایـن دومن‌ها تجمع یافته‌اند. الگوی این تغییر به بهتـرین نحـو بوسـیله یـک نمـودار در زنجیـره پلی‌پپتیدی بیان می‌شود. تغییرپذیری به این صورت تعریف می‌شود:

$$\text{تغییرپذیری} = \frac{\text{تعداد اسیدهای آمینه متفاوت در یک موقعیت}}{\text{تواتر شایع‌ترین اسید آمینه در همان موقعیت}}$$

بنابراین اگر مقایسه بین توالی‌های صدزنجیره سنگین مشخص کند که اسید آمینه سـرین در موقعیت هفتم ۵۱ عدد از توالی‌ها وجود دارد، بنابراین سرین شایع‌ترین اسـید آمینـه در آن موقعیت خواهد بود. اگر بررسی ۴۹ توالی باقی‌مانده نشان دهدکه موقعیت هفتم با یکـی از اسیدهای آمینـه گلوتـامین، هیسـتیدین، پـرولین و تریپتوفـان اشـغال شـده اسـت، پـس تغییرپذیری در موقعیت هفتم $\frac{5}{0/51}$=۹/۸ می‌باشد. نمودار تغییرپذیری دومـن‌هـایV_Lو V_H در آنتی‌بادی‌های انسانی نشان می‌دهد که بیشترین تغییرات در موقعیت‌هایی از توالی دیـده می‌شود که مطابق با حلقه‌های اتصال دهنده رشته‌های β می‌باشند (شکل ۱۲-۴).

www.bbooks.ir



شکل ۱۲-۴: تغییر پذیری بنیان های اسید آمینه ای در حوزه های V_L و V_H آنتی بادی انسانی با ویژگی های مختلف. سه ناحیه بسیار متغیر که CDR نیز خوانده می شوند در حوزه های V زنجیره سبک و سنگین وجود دارند.

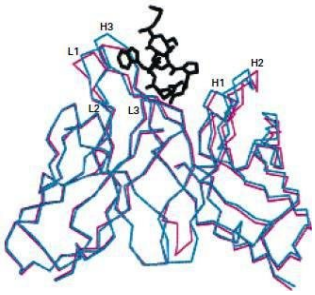
این نواحی به دلیل تغییرپذیری بالای خویش، معمولاً نواحی فوق‌العاده متغیر نامیده می‌شوند. نواحی فوق‌العاده متغیر، جایگاه اتصال به آنتی‌ژن مولکول آنتی‌بادی راتشکیل می‌دهند. به دلیل این که جایگاه اتصال به آنتی‌ژن، مکمل ساختار اپی‌توپ می‌باشد، در حال حاضر این نواحی تحت عنوان نواحی مکمل تعیین‌کننده (CDR) شناخته می‌شوند. ناحیه CDR در هر کدام از زنجیره‌های سبک و سنگین، دوی حلقه‌های متصل کننده رشته‌های β دومن‌های V_Hو V_L قرار دارند. مابقی دومن‌های V_Hو V_L تغییرات بسیار کمتری را نشان می‌دهند. این ساختارها، نواحی داربستی(ERs) نامیده می‌شوند. نواحی داربستی به عنوان چهارچوبی برای پایداری۶ حلقه CDR عمل می‌کنند. ساختارهای سه بعدی نواحی داربستی آنتی‌بادی‌هایی که تا به امروز تحلیل شده‌اندف مطابق با سایرین بوده و برعکس، حلقه‌های فوق‌العاده متغیر (CDRs) در هر آنتی‌بادی منحصر به فرد می‌باشند.

- به نظر می‌رسد اتصال به آنتی‌ژن منجر به القای تغییر در آرایش فضایی گردد

همان گونه که تحلیل بلورنگاری پرتو x از قطعات Fab کاملترمی‌شد، آشکار شد که در برخی موارد، اتصال آنتی‌ژن سبب القای تغییر آرایش فضایی درمولکول آنتی بادی، آنتی‌ژن

www.bbooks.ir

و یا هر دو می‌شود. یک مثال برجسته از تغییر آرایش فضایی در شکل‌گیری مجموعه بین قطعه Fab و اپی‌توپ پپتیدی آن، در شکل ۱۵-۴ نشان داده شده است.



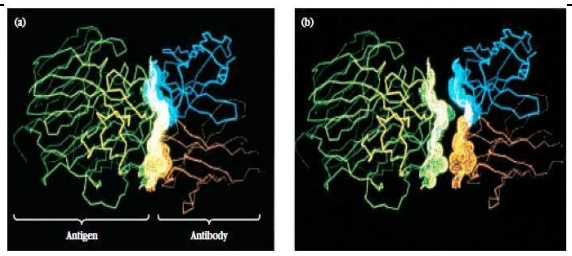
شکل ۱۵-۴: تغییرات ساختاری در جایگاه اتصال به آنتی ژن.

تغییرات ساختاری شگرفی در زمان اتصال Fab رخ می‌دهد. ناحیه CDR1 زنجیره سبک به اندازه ۱A˚ و CDR3 زنجیره سنگین به اندازه ۲/۷A˚ تغییر مکان می‌دهند. بنابراین علاوه بر تغییرپذیری در طول و اسیدهای آمینه تشکیل دهنده حلقه های CDR، توانایی تغییر آرایش فضایی این حلقه‌ها در زمان اتصال به آنتی‌ژن، مولکول آنتی‌بادی را قادر می‌سازد تا شکل مکمل مؤثرتری را جهت اتصال به اپی‌توپ به خودبگیرد.

- دومن‌های C_L و C_H1

دومن‌های C_L و C_H1 سبب طویل شدن بازوی Fab مولکول آنتی‌بادی شده و از این طریق برهمکنش میان آنتی‌ژن و آنتی‌بادی را تسهیل کرده و حداکثر چرخش بازوی Fab را افزایش می‌دهند. به علاوه، یک اتصال دی‌سولفید بین زنجیره‌ای میان این دومن‌های زنجیره سنگین به نگهداری دومن های V_L و V_H در مجاورت یکدیگر کمک می‌کند (شکل ۱۳-۴).

www.bbooks.ir



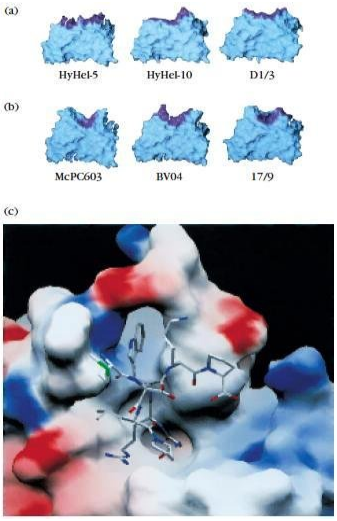
شکل ۱۳-۴: تصویر رایانه ای از واکنش آنتی بادی و آنتی ژن ویروس آنفولانزا. (a) این آنتی ژن با مولکول آنتی بادی واکنش می دهد. (b) آنتی بادی و آنتی ژن به اندازه 8Å از یکدیگر جدا شده اند تا رابطه مکملی بین آنها آشکار شود.

همچنین دومن‌های C_L و C_H1 با افزایش امکان تجمع تصادفی دومن‌های V_L و V_H در تنوع آنتی‌بادی نیز شرکت دارند. این ملاحظات، نقش با اهمیت آنها را در ساخت گنجینه متنوع آنتی‌بادی‌ها را مشخص می‌کند.

- ناحیه لولا

زنجیره‌های سنگین γ ، δ و α حاوی توالی پپتیدی بین دومن‌های C_H1 و C_H2 هستند که با سایر دومن‌ها همسانی ندارند(شکل ۱۴-۴).

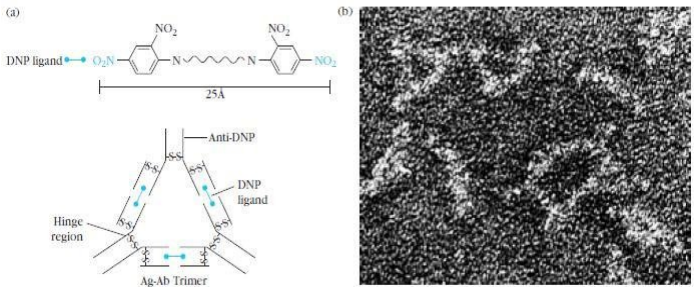
www.bbooks.ir



شکل ۱۴-۴: جایگاه های اتصال آنتی بادی. به طور معمول، جایگاه اتصال برای مولکول کوچک تر به صورت عمقی تر می باشد، در حالی که جایگاه اتصال پروتئین ها به صورت سطحی می باشد. در قسمت a سه آنتی بادی ویژه لیزوزیم (یک پروتئین کروی بزرگ) و در شکل b سه آنتی بادی اختصاصی مولکول های کوچک تر؛ MPC603 برای فسفوکولین، BV04 برای قطعه کوچکی از مولکول تک رشته DNA و ۱۷/۹ برای پپتید هماگلوتینین نشان داده شده است. (c) ایجاد مجموعه بین یک پپتید کوچک حاصل از پروتئاز HIV و قطعه Fab یک آنتی بادی ضد پروتئاز.

این ناحیه با نام ناحیه لولا، حاوی زیرواحدهای غنی از پرولین بوده و انعطاف‌پذیر می‌باشد که به مولکلوهای IgG، IgD و IgA خاصیت انعطاف‌پذیری می‌دهد؛ در نتیجه در زمان اتصال به آنتی‌ژن، در بازوی Fab می‌توانند زوایای مختلفی نسبت بگیرند. این انعطاف‌پذیری ناحیه لولا را می‌توان با عکسبرداری توسط میکروسکوپ الکترونی از مجموعه آنتی‌ژن-آنتی‌بادی مشاهده نمود. برای نمونه، وقتی یک مولکول حاوی در گروه دی‌نیتروفنل (DNP) با مولکول آنتی‌بادی ضد DNP واکنش می‌دهد، با ثابت نمودن مجموعه روی گرید(grid)، رنگ‌آمیزی منفی و مشاهده توسط میکروسکوپ الکترونی مجموعه‌های بزرگی دیده می‌شوند. زاویه میان مولکول آنتی‌بادی(با شکل Y) در مجموعه‌های مختلف، متفاوت می‌باشد که نشان‌دهنده انعطاف‌پذیری ناحیه لولا می‌باشد(شکل ۱۶-۴).

www.bbooks.ir



شکل ۱۶-۴: اثبات تجربی انعطاف پذیری ناحیه لولا در مولکول آنتی بادی. (a) هاپتنی که دو گروه DNP و یک گروه جداکننده کوتاه با آنتی بادی ضد DNP واکنش داده است و مجموعه ترایمری را بوجود آورده است. (b) میکروگراف الکترونی از مجموعه های رنگ آمیزی شده به صورت منفی، دو ساختار مثلثی ترایمر به وضوح نشان داده شده است.

دو اسید آمینه مهم در ناحیه لولا، پرولین و سیستئین می‌باشند. تعداد فراوان زیرواحدهای پرولین در ناحیه لولا سبب ایجاد آرایش فضایی پلی‌پپتیدی باز می‌شود که آن را به شکست با واسطه آنزیم‌های پروتئولیتیک آسیب‌پذیر می‌نماید؛ لولا ناحیه‌ای می‌باشد که توسط پاپائین یا پپسین شکسته می‌شود(شکل ۷-۴). زیر واحدهای سیستئین، پیوندهای دی‌سولفید بین زنجیره‌ای را تشکیل می‌دهند که دو زنجیره سنگین را در مجاورت یکدیگر نگه می‌دارند. تعداد پیوندهای دی‌سولید بین زنجیره‌ای در ناحیه لولا، درمیان رده‌های متفاوت آنتی‌بادی و بین گونه‌ها بسیار متغیر می‌باشند.

- سایر دومن‌های ناحیه سنگین

زنجیره های سنگین IgD، IgG و IgA حاوی سه دومن ناحیه سنگین ویک ناحیه لولا می‌باشند، در حالی که زنجیره های سنگین IgM و IgE دارای چهار دومن می‌باشند و فاقد لولا هستند. مطابقت دومن‌های این دو گروه در زیر نشان داده شده است:

www.bbooks.ir

IgA, IgG, IgD	IgM, IgE
C_H1/C_H1	C_H1/C_H1
ناحیه لولا	C_H2/C_H2
C_H2/C_H2	C_H3/C_H3
C_H3/C_H3	C_H4/C_H4

تحلیل پرتونگاری اشعه X آشکار نموده است که دومن‌های C_H2 از IgA، IgD و IgA و دومن‌های C_H3 از IgM و IgE توسط زنجیره‌های جانبی اولیگو ساکاریدی از یکدیگر جدا می‌شوند و این امر مانع از اتصال میان دومن‌های مجاور می‌گردد (شکل ۹-۴)؛ در نتیجه، این دو دومن کروی در محیط آبی نسبت به سایر دومن‌ها قابل دسترس می‌باشند. این دسترسی یکی از عوامل دخیل در فعالیت زیستی این دومن ها جهت فعال‌سازی اجزای کمپلمان توسط IgM و IgG می‌باشد.

دومن انتهای کربوکسیل IgD، IgG و IgA با C_H3/C_H3 و در IgE، IgM با C_H4/C_H4 مشخص می‌شوند. پنج رده آنتی‌بادی و زیر رده‌های آنها می‌توانند هم به صورت ایمونوگلبولین ترشحی (sIg) و هم غشایی (mIg) عرضه شوند. دومن انتهای کربوکسیل sIg از لحاظ ساختار و عملکرد با دومن‌های مشابه خود رد mIg متفاوت می‌باشند. sIg حاوی توالی‌های اسید آمینه آبدوست باطول‌های متفاوت در انتهای کربوکسیل خود می‌باشد. عملکردهای این دومن در رده‌های مختلف آنتی‌بادی‌های ترشحی بعداً بحث خواهد شد. در mIg، انتهای کربوکسیل حاوی سه بخش می‌باشد:

- یک توالی آبدوست خارج سلولی «جدا کننده» متشکل از ۲۶ اسید آمینه
- یک توالی غشاگذر آبگریز
- یک دم سیتوپلاسمی کوتاه

www.bbooks.ir

- عملکرد اجرایی آنتی‌بادی

علاوه بر اتصال به آنتی‌ژن، آنتی‌بادی‌ها در محدوده گسترده ای از فعالیت‌های زیستی شرکت دارند. زمانی که می‌گوییم آنتی‌بادی‌ها در دفاع علیه بیماری‌ها نقش دارند، باید به خاطر داشته باشیم که آنتی‌بادی‌ها به طور معمول تنها با اتصال به پاتوژن‌ها باعث حذف یا کشتار آنها نمی‌شوند. آنتی‌بادی‌ها نه تنها بایستی آنتی‌ژن را شناسایی کنند، بلکه باید سبب تحریک پاسخ نیز بشوند که نتیجه آن حذف آنتی‌ژن و مرگ پاتوژن می‌باشد. اگرچه نواحی متغیر آنتی‌بادی‌ها، عوامل منحصر به فرد در اتصال به آنتی‌ژن می‌باشند اما ناحیه ثابت زنجیره سنگین (C_H) مسئول برهمکنش با سایر پروتیئن‌ها، سلول‌ها و بافت‌ها می‌باشد که در نهایت منجر به اعمال اجرایی پاسخ های هومورال می‌گردد.

- اپسونیزاسیون به وسیله آنتی‌بادی افزایش می‌یابد

اپسونیزاسیون یک عامل مهم در دفاع ضد باکتریایی می‌باشد. مولکول‌های پروتئینی با نام پذیرنده‌های Fc (FCRs) که می‌توانند به ناحیه ثابت مولکول ایمونوگلبولین متصل شوند، در سطح ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها حضوردارند، همان‌گونه که در سطح سایر سلول‌های غیربیگانه‌خوار نیز حضور دارند. اتصال پذیرنده‌های Fc بیگانه‌خوار به چندین مولکول آنتی‌بادی متصل به یک آنتی‌ژن هدف، برهمکنش‌هایی را ایجاد می‌کند که سبب اتصال پاتوژن به غشای بیگانه‌خوار می‌شود. این اتصال متقاطع FcRها در نتیجه پیوند با نواحی Fc، مسیرهای انتقال پیامی را به راه‌می‌اندازد که منجر به بیگانه‌خواری مجموعه آنتی‌ژن-آنتی‌بادی می‌گردد. پاتوژن در داخل بیگانه‌خوار، هدف فرآیندهای تخریبی گوناگونی مثل هضم آنزیمی، تخریب اکسیداتیو و اثرات تخریبی غشا توسط پپتیدهای ضد میکربی قرار می‌گیرد.

www.bbooks.ir

- آنتی‌بادی کمپلمان را فعال می‌کند

IgM(در انسان) و بیشتر زیررده های IgG می‌توانند مجموعه‌ای از گلیکوپروتئین‌های سرمی با نام سیستم کمپلمان را فعال کنند. یکی از مهمترین محصولات تولید شده در اثر فعال شدن کمپلمان یک قطعه پروتئینی به نام C3b می‌باشد که به صورت غیر اختصاصی به سلول‌ها و مجموعه‌های آنتی‌ژن-آنتی‌بادی مجاور جایگاه فعال شدن کمپلمان متصل می‌شود. انواع بسیاری از سلول‌های مثل RBCها و ماکروفاژها دارای پذیرنده C3b بوده و توسط آن به سلول‌ها یا مجموعه های حاوی C3b متصل می‌شوند اتصال C3b به ماکروفاژ منجر به بیگانه‌خواری سلول‌ها یا مجموعه‌های مولکولی چسبیده به C3b می‌شود. اتصال مجموعه‌های آنتی‌ژن، آنتی‌بادی به واسطه پذیرنده‌های C3b روی گلبول‌های قرمز، به این سلول‌ها اجازه می‌دهد تا مجموعه‌ها را به کبد یا طحال برسانند و در آنجا ماکروفاژهای مقیم، بدون آسیب‌رساندن به گلبول‌های قرمز اقدام به پاکسازی این مجموعه‌ها می‌کنند.

- سایتوتوکسیسیته سلولی وابسته به آنتی‌بادی (ADCC) سلول‌ها را می‌کشد

آنتی‌بادی متصل به سلول‌هدف مثل سلول‌های آلوده به ویروس میزبان، با اتصال به پذیرنده‌هایFc شماری از انواع سلول‌ها به خصوص سلول‌های کشنده طبیعی (NK)می‌تواند فعالیت سلول‌کشی را علیه سلول‌هدف، جهت‌دهی نماید. در این فرآیند که سایتوتوکسیسیته سلولی وابسته به آنتی‌بادی (ADCC) نام دارد، آنتی‌بادی به عنوان پذیرنده اکتسابی جدیدی عمل می‌کند که سلول‌های کشنده را قادر می‌سازد سلول‌های هدف را شناسایی و آنها را نابود کنند. پدیده ADCC در فصل ۱۴ بحث خواهد شد.

- رده‌های آنتی‌بادی و فعالیت‌های زیستی

پیش‌تر به طور خلاصه به ایزوتیپ‌های گوناگون ایمونوگلبولین و رده‌های آنها اشاره شد. هر رده بوسیله توالی‌های اسید آمینه منحصر به فرد ناحیه ثابت زنجیره سنگین متمایز

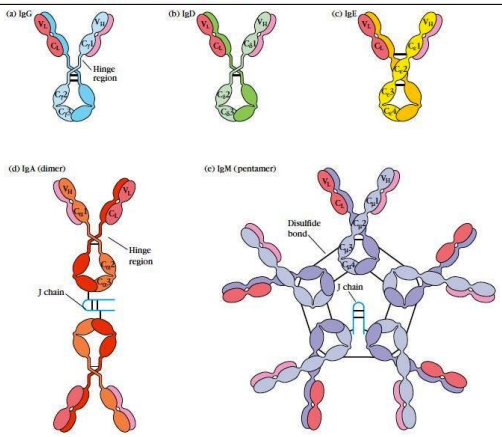
www.bbooks.ir

می‌شود که تعیین کننده ساختار ویژه رده و خصوصیت عملکردی آن می‌باشد. در این بخش ساختار و عملکرد اجرایی هر رده با جزئیات بیشتری بحث می شود (جـدول ۴-۴ و شـکل ۴-۱۷).

TABLE 4-4 Properties and biological activities* of classes and subclasses of human serum immunoglobulins

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgM‡	IgE	IgD
Molecular weight†	150,000	150,000	150,000	150,000	150,000 – 600,000	150,000 – 600,000	900,000	190,000	150,000
Heavy-chain component	γ1	γ2	γ3	γ4	α1	α2	μ	ε	δ
Normal serum level (mg/ml)	9	3	1	0.5	3.0	0.5	1.5	0.0003	0.03
In vivo serum half-life (days)	23	23	8	23	6	6	5	2.5	3
Activates classical complement pathway	+	+/−	++	−	−	−	++	−	−
Crosses placenta	+	+/−	+	+	−	−	−	−	−
Present on membrane of mature B cells	−	−	−	−	−	−	+	−	+
Binds to Fc receptors of phagocytes	++	+/−	++	+	−	−	?	−	−
Mucosal transport	−	−	−	−	++	++	+	−	−
Induces mast cell degranulation	−	−	−	−	−	−	−	+	−

*Activity levels indicated as follows: ++ = high; + = moderate; +/− = minimal; − = none; ? = questionable.
†IgG, IgE, and IgD always exist as monomers; IgA can exist as a monomer, dimer, trimer, or tetramer. Membrane-bound IgM is a monomer, but secreted IgM in serum is a pentamer.
‡IgM is the first isotype produced by the neonate and during a primary immune response.

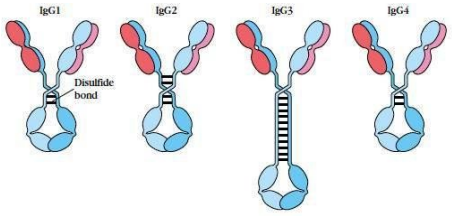


شکل ۴-۱۷: ساختار کلی ۵ رده عمده آنتی بادی های ترشحی.

www.bbooks.ir

- ایمونوگلبولین G (IgG)

IgG ، فراوان‌ترین رده موجود در سرم بوده و ۸۰٪ کل ایمونوگلبولین‌های سرم را تشکیل می‌دهد. مولکول IgG حاوی دو زنجیره سنگین γ و دو زنجیره سبک κ یا λ می‌باشد (شکل ۱۷-۴). IgG انسانی حاوی چهار زیر رده IgG1، IgG2، IgG3 و IgG4 می‌باشند که با تفاوت در توالی ناحیه سنگین زنجیره γ از یکدیگر متمایز می‌شوند (شکل ۱۸-۴).



شکل ۱۸-۴: ساختار کلی ۴ زیر رده IgG انسانی که تعداد و آرایش اتصالات دی سولفیدی بین زنجیره ای در آنها (خطوط سیاه رنگ) زنجیره های سنگین را به یکدیگر متصل می کنند. یک مشخصه قابل توجه IgG3 انسانی وجود ۱۱ اتصال دی سولفید داخل زنجیره ای در آن می باشد.

تفاوت‌های ناچیز میان اسیدهای آمینه زیر رده‌های IgG روی فعالیت زیستی مولکول نأثیر می‌گذارند:

- IgG1، IgG3 و IgG4 به سادگی از جفت عبور کرده و نقش مهمی در حفاظت از جنین در حال تکوین برعهده دارند.
- IgG3 کارآمدترین فعال کننده کمپلمان بوده و پس از آن، IgG1 قرار دارد؛ IgG2 کارآیی کمتری داشته و IgG4 فاقد توانایی فعال‌سازی کمپلمان می‌باشد.
- IgG1 و IgG3 با میل پیوندی بالا به پذیرنده‌های Fc سلول‌های بیگانه‌خوار متصل شده و در اپسونیزاسیون شرکت می‌کنند. IgG4 میل پیوندی متوسط داشته و IgG2 میل پیوندی بسیار پایین برای پذیرنده‌های Fc دارند.

www.bbooks.ir

- ایمونوگلبولین M (IgM)

IgM با غلظت سرمی حدود ۱/۵/m1 ، ۵ تا ۱۰ درصد ایمونوگلبولین‌های سرم را تشکیل می‌دهد، IgM منومر (۱۸۰۰۰۰Da) به عنوان یک آنتی‌بادی غشایی روی سلول B عرضه می‌شود. IgM ترشحی پنتامر بوده که حاوی پنج واحد منومری بوده که توسط اتصالات دی‌سولفید بین دومن‌های CM_4/CM_4 و دومن‌های CM_3/CM_3 خویشف مجاور یکدیگر نگه داشته می‌شوند(شکل ۱۷-۴). پنج زیر واحد منومری به گونه‌ای قرار می‌گیرند که نواحی Fc آنها به سمت مرکز پنتامر بوده و ۱۰ جایگاه اتصال به آنتی‌ژن دور تا دور مولکول را فرا می‌گیرند. هر پنتامر حاوی یک پلی‌پپتید اضافی متصل به Fc به نام زنجیره اتصال (J)می‌باشد که با اتصالات دی‌سولفید به سیستئین انتهای کروبکسیل دو زنجیره از ۱۰ زنجیره μ متصل می‌شود. به نظر می‌رسد که زنجیره J برای پلیمریزاسیون M و I منومرو تشکیل پنتامر ضروری می‌باشد.

به دلیل اندازه بزرگ، IgM نمی‌تواند به خوبی انتشار یابد و بنابراین در مایعات بین سلولی بافت‌ها به میزان بسیار اندکی حضور دارد. حضور زنجیره J امکان اتصال IgM به پذیرنده سلول‌های ترشحی را فراهم می‌آورد. این سلول‌ها IgM را از میان لایه اپی‌تلیال انتقال می‌دهند تا وارد ترشحات حارجی روی سطوح مخاطی شود. اگر چه IgA ایزوتایپ عمده موجود در این ترشحات می‌باشد، اما IgM نیز نقش کمکی مهمی به عنوان یک ایمونوگلبولین ترشحی برعهده دارد.

- ایمونوگلبولین A (IgA)

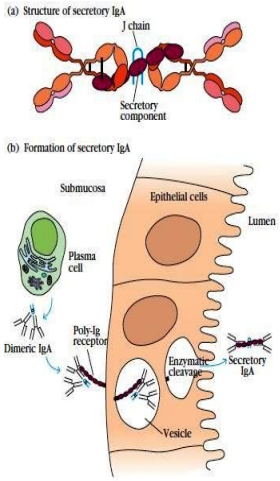
اگر چه IgA تنها ۱۰-۵٪ کل ایمونوگلبولین‌های سرمی را تشکیل می‌دهد، ولی رده غالب در ترشحات خارجی مانند شیر، بزاق، اشک، مخاط مجاری تنفسی، گوارشی و تناسلی می‌باشد. در سرم، IgA اساساً به صورت منومر حضور دارد اما شکل پلیمری آن (دایمر، ترایمر و در برخی موارد تترامر) نیز گاهی دیده می‌شود. که همگی حاوی یک زنجیره J

www.bbooks.ir

می‌باشند (شکل ۱۷-۴). IgA موجود در ترشحات خارجی sIgA نامیده می‌شود و شامل یک دایمر یا ترایمر به همراه یک زنجیره پلی‌پپتیدی به نام جزء ترشحی (SC) می‌باشد (شکل ۱۹-۱۴).

Sc یک پلی‌پپتید Da ۷۰۰۰۰ می‌باشد که توسط سلول‌های اپی‌تلیال غشاهای مخاطی تولید می‌گردد. این جزؤ از ۵ دومن شبه ایمونوگلبولینی تشکیل شده که به دومن‌های ناحیه Fc مولکول IgA دایمر متصل می‌شود.

سلول‌های B ترشح کننده IgA ترجیحاً به بافت‌های زیر اپی‌تلیال مهاجرت می‌کنند و در آنجا به پلاسماسل‌های ترشح کننده IgA تمایز می‌یابند. IgA به پذیرنده مولکول ایمونوگلبولین پلیمر به صورت محکم متصل می‌شود (شکل ۱۹-۴).



شکل ۱۹-۴: ساختار و تشکیل IgA ترشحی IgA (a) ترشحی حداقل دارای دو مولکول IgA می باشد که به صورت کووالان از طریق یک زنجیره J به یکدیگر متصل شده اند که همچنین از طریق کووالان به جزء ترشحی متصل شده است. IgA (b) ترشحی در پی انتقال از سلول های اپی تلیال غشای مخاطی شکل می گیرد. IgA دایمر به یک پذیرنده پلی Ig بر روی غشای بازولترال متصل می شود و توسط فرآیند اندوسیتوز وابسته به پذیرنده، وارد سلول می شود.

www.bbooks.ir

این پذیرنده Poly-Ig روی سطح بازال اغلب سلول‌های اپی‌تلیال مخاطی و همچنین اپی‌تلیال غدد بزاقی و غددشیری عرضه می‌شود. پس از اتصال IgA دایمر به poly-IgR، مجموعه پذیرنده –IgA از میان سد اپی‌تلیال به سمت لومن انتقال می‌یابد و در آنجا پذیرنده poly-Igتحت تاثیر شکست آنزیمی به sc تبدیل شده که به IgA پلیمر متصل می‌باشد. Sc جایگاه حساس به شکست پروتئازی ناحیه لولای IgA را پوشانده و این امکان را فراهم می‌کند تا مولکول پلیمری نسبت به سایرین، به مدت طولانی‌تری در محیط مخاطی غنی از آنزیم‌های پروتئازی باقی بماند. IgM پنتامر نیز با همین سازدکار می‌تواند به مخاط ترشحی انتقال یابد. پذیرنده Poly-Ig با زنجیره J هر دو آنتی‌بادی IgA و IgM واکنش می‌دهد.

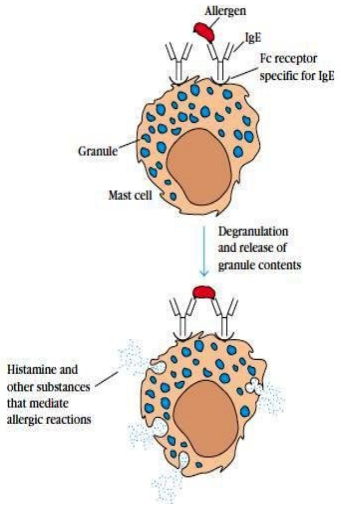
- ابمونوگلبولین E(IgE)

توانایی زیستی بالای IgE، این امکان را فراهم می‌کند که علیرغم غلظت بسیار پایین آن در سرم (۰/۳μg/m1) قابل شناسایی باشد. آنتی‌بادی‌های IgE واکنش‌های ازدیاد حساسیت فوری را میانجی‌گری می‌نمایند که مسئول علائم ایجاد شده در تب یونجه، آسم، کهیر و شوک آنافیلاکسی می‌باشند. برای اولین بار در سال ۱۹۲۱ توسط پراوسنیتز و کاستنر نشان داده شد که حضور یک جزء سرم مسئول واکنش‌های آلرژیک می‌باشد؛ آنها سرم یک فرد آلرژیک را به صورت داخل جلدی به یک فرد غیر آلرژیک تزریق نمودند. پس از مدتی، هنگامی‌که آنتی‌ژن مناسب به همان محل تزریق شد، واکنش Flare, Wheal (تورم و قرمزی) در آن محل ایجاد شد. این واکنش P-K خوانده می‌شد و اساس آزمون زیستی برای نشان دادن فعالیت IgE بود.

IgE به پذیرنده‌های Fc روی غشای بازوفیل‌های خونی و ماست‌سل‌های بافتی متصل می‌شود و اتصال متقاطع پذیرنده‌های متصل به مولکول های IgE توسط آلرژن، سبب می‌شود که بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها گرانول‌های خود را به سمت غشای پلاسمایی جابه‌جا

www.bbooks.ir

کرده ومحتویات آنها را به محیط خارج سلولی رها سازند؛ فرآیندی که تحت عنوان دگرانولاسیون خوانده می‌شود. در نیتجه، واسطه‌های فعال گوناگونی رها شده و تظاهرات آلرژی شکل می‌گیرند(شکل ۲۰-۴).



شکل ۲۰-۴: اتصال متقاطع آلرژن با IgE متصل به پذیرنده روی ماست سل ها موجب دگرانولاسیون و رها شدن موادی از این سلول می شود که تظاهرات آلرژیکی را در بر خواهد داشت.

همچنین دگرانولاسیون متمرکز ماست سل‌ها توسط IgE، میانجی‌هایی را رها می‌کنند که سبب تسهیل تجمع سلول‌های گوناگون مورد نیاز جهت دفاع ضدانگلی با واسطه ADCC می‌شوند.

- ایمونوگلبولین D (IgD)

IgD برای اولین بار زمانی کشف شد که یک بیمار مالتیپل میلوما، پروتئین میلومایی را تولید می‌نمود که با هیچ یک از آنتی‌ایزوتایپ های شناخته شده تا آن زمان (IgA، IgG، IgM) واکنش نمی‌داد. هنگامی که خرگوش‌ها را با این پروتئین میلومایی ایمن نمودند آنتی‌سرم حاصل برای شناسایی همان رده از آنتی‌بادی که به میزان اندکی در سرم افراد

www.bbooks.ir

طبیعی وجود داشت به کاربرده شد. این رده جدید به نام IgD ، غلظت سرمی حدود ۳۰ μg/m1 داشته و تقریباً ۰/۲٪ از کل ایمونوگلبولین‌های سرم را تشکیل می‌دهد. IgD به همراه IgM، عمده‌ترین ایمونوگلبولین های غشایی عرضه شده توسط سلول‌های B بالغ می‌باشند.

- تمرکز بالینی

- درمان توسط آنتی‌بادی‌ها

در سال ۱۹۸۰، امیل بهرینگ و کیتازاتو آزمایش شگفت آوری را گزارش کردند. آنها پس از ایمونیزاسیون خرگوش‌ها با کزاز و جداسازی سرم آنها، ۰/۲ میلی‌لیتر از سرم را به حفره شکمی شش موش تزریق کردند. ۲۴ ساعت بعد، آنها جانوران تیمار شده و یک گروه کنترل را با سوئیه زنده وبیماری‌زای باکتری کزاز آلوده کردند. ظرف ۴۸ ساعت، تمام موش‌های کنترل به دلیل عفونت مردند، در حالی که موش‌های تیمار شده نه تنها زنده ماندند بلکه علائم بیماری را نیز نشان نمیدادند. این آزمایش خارق‌العاده دو نکته مهم را آشکار ساخت. اول، نشان داد که پس از ایمونیزاسیون، موادی در سرم آشکار می‌شوند که می‌توانند حیوان را در برابر پاتوژن محافظت کنند. دوم، ثابت نمود که ایمنی می‌تواند به صورت غیر فعال به دست آید.

این مشاهدات اولیه، راه را برای شناخت و معرفی ایمونیزاسیون غیر فعال در تجربه‌های بالینی هموارنمود. در طی‌دهه‌های ۱۹۳۰ و ۱۹۴۰ ایمونوتراپی غیر فعال جهت پیشگیری با تغییر جریان سرخک و هپاتیت A به کار برده شد. در طی‌سال‌های بعد، آزمون‌های بالینی و پیشرفت در روش‌های آماده سازی ایمونوگلبولین جهت ایمونیزاسیون غیرفعال، این روش به یک شیوه بالینی استاندارد تبدیل شد. ایمونیزاسیون غیرفعال براساس انتقال آنتی‌بادی‌ها، به طور گسترده در درمان نقایص ایمنی و همچنین به عنوان درمان هایی محافظت کننده جهت

www.bbooks.ir

پیشگیری قبل از مواجهه با عوامل عفونی یا سمی در فردی که نسبت به آنها ایمنی ندارد، استفاده می‌شوند.

ایمونوگلبولین جهت ایمن‌سازی غیرفعال، از مخلوطی از پلاسمای هزاران فرد دهنده آماده می‌شود. درحقیقت، دریافت کنندگان این آنتی‌بادی‌ها، نمونه‌ای حاوی آنتی‌بادی‌های تولید شده توسط بسیاری از مردم است که علیه طیف گسترده‌ای از پاتوژن‌ها تولید شده است.

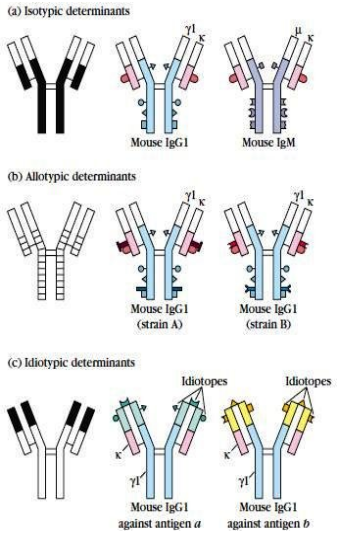
۱ گرم از ایمونوگلبولین تزریقی (IVIG)دارای حدوداً $۱۰^{۱۸}$ مولکول آنتی‌بادی (بیشتر IgG)بوده و ترکیبی از $۱۰^{۷}$ ویژگی متفاوت می‌باشد. در طی دوره درمان، بیماران میزان قابل توجهی IVIG دریافت می‌کنند. این بدان معنی است که بیمار نقص ایمنی ۷۰ کیلوگرم می‌بایستی۲۸-۱۴ گرم IVIG هر ۳ یا ۴ هفته یکبار دریافت کند. محصول مشتق شده ازخون چنین شمار بالایی از دهنده‌ها حطر انتقال عوامل بیماری‌زا به خصوص ویروس ها را دارد.با فرآیندهای به کار گرفته شده در تولید IVIG، خطر چنین بیماری‌هایی به حداقل می‌رسد.IVIGتولیدی، توسط محلول هایی مثل اتانول و یا با استفاده از دترجنت‌های بسیار کارآمد در غیر فعال‌سازی ویروس‌هایی مانند HIV و هپاتیت، پاکسازی می‌شوند. علاوه بر برداشت یا غیر فعال‌سازی عوامل عفونی، در فرآیندهای تولید بایستی Igهای به هم پیوسته نیز حذف شوند. زیرا تجمع آنتی‌بادی‌ها می‌تواند سبب فعال‌سازی عوامل عفونی، در فرآیندهای تولید بایستی Igهای به هم پیوسته نیز حدف شوند، زیرا تجمع آنتی‌بادی‌ها می‌تواند سبب فعال‌سازی گسترده کمپلمان شده و سبب آنافیلاکسی شدید و یا حتی کشنده شود.

- شاخص‌های آنتی‌ژنی ایمونوگلبولین‌ها

خود مولکول‌های ایمونوگلبولین می توانند به عنوان ایمنی‌زاهای پرقدرت عمل کرده وسبب القای پاسخ آنتی‌بادی شوند. چنین آنتی‌بادی‌های ضد Ig، ابزارهای توانمندی جهت بررسی تکوین سلول B و پاسخ‌های ایمنی هومورال می‌باشند. شاخص‌های آنتی‌ژنی (اپی‌توپ‌ها) روی

www.bbooks.ir

مولکول‌های ایمونوگلبولین، درسه گروه عمده طبقه‌بندی می شوند: شـاخص‌هـای ایزوتـایپی، آتوتایپی و ایدیوتایپی که در بخش‌های معینی از مولکول قرار گرفته‌اند (شکل ۲۱-۴).



شکل ۲۱-۴: شاخص های آنتی ژنی ایمونوگلبولین ها. (a) شاخص های ایزوتایپی، شاخص های ناحیه ثابت می باشند که رده و زیررده Ig را در گونه ها متمایز می کنند. (b) شاخص های آلوتایپی توالی های مشخص اسید آمینه ای می باشند که توسط آلل های مختلفی از ژن های آلوتایپ کد می شوند. اختلاف آلوتایپی را می توان با مقایسه رده یک آنتی بادی در بین سویه های درون زاد مختلف شناسایی کرد. (c) شاخص های ایدیوتایپی با ترکیبی از توالی های اسیدآمینه های نواحی متغیر زنجیره سنگین و سبک اختصاصی برای هر یک از آنتی ژن ها تشکیل می شوند. هر یک از شاخص های مشخص یک ایدیوتوپ نامیده می شود و مجموع تمام ایدیوتوپ ها، ایدیوتایپ می باشد.

- ایزوتایپ

شاخص‌های ایزوتایپی، شاخص‌های ناحیه ثابت می‌باشند که در مجموع، هر رده و زیر دره زنجیره سنگین و نوع و زیر نوع زنجیره سبک را درمیان گونه‌ها تعیین می‌کنـد (شـکل ۲۱-۴). گونه‌های متفاوت، ژن‌های ناحیه ثابت مختلفی را به ارث برده و در نتیجه ایزوتایپ‌هـای متفاوتی را عرضه می‌کنند. بنابراین، زمانی که یک آنتی‌بادی از یـک گونـه بـه گونـه دیگـر تزریق می‌شود، شاخص‌های ایزوتایپی به عنوان بیگانه شناسایی شده و پاسخ آنتی‌بادی علیـه

www.bbooks.ir

شاخص‌های ایزوتایپی آنتی‌بادی بیگانه القا می‌گردد. آنتی‌بادی ضد ایزوتایپ، به طـور رایـج در اهداف تحقیقاتی به منظور تعیین تولید یک رده یا زیررده آنتی‌بادی در طول یـک پاسـخ ایمنی یا جهت تشخیصی رده آنتی‌بادی غشایی سلول‌های B استفاده می‌شود.

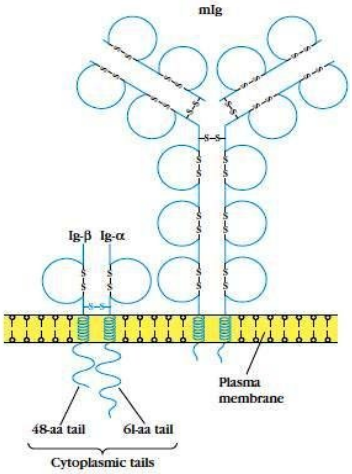
- آلوتایپ

اکر چه تمام اعضای یک گونه مجموعه‌ای یکسان از ژن‌های ایزوتایپ را به ارث می‌برنـد ولی برای برخی ژن ها چندین آلل وجود دارد (شکل ۲۱-۴). این آلل‌ها تفـاوت‌هـای نـاچیز اسیدآمینه‌ای را کد می‌کنند که دربرخی افراد یک گونه وجود دارند. مجموع شـاخص‌هـای آلوتایپی منحصر به فرد یک آنتی‌بادی، آلوتایپ آن را تعیین می‌کند. در انسان بـرای هـر ۴ زیر رده IgG و برای یک زیررده IgA و برای زنجیره سبک κ آلوتایپ‌هایی شناسـایی شـده است. آلوتایپ‌های زنجیره γبا شاخص‌های Gm نشان داده می‌شـوند. حـداقل ۲۵ آلوتایـپ Gm متفاوت شناسایی شده است؛ پس از رده و زیررده، شـمار آلـل آنهـا نمـایش داده مـی شوند. مثلاً G3m، G2m(23)، G1m(1) ، از دو زیر رده IgA تنها زیر رده IgA2 دارای دو آلوتایپ A2m(1)، A2m(2) می‌باشد. زنجیره κ سه آلوتایپ دارد که بـا Km(2) ، Km(2) و Km(3) مشخص می‌شوند. هر کدام از این شاخص‌ها در یک تا چهار اسید آمینـه تفـاوت دارند که توسط آلل‌های مختلف یک ژن کد می‌شوند.

- ایدیوتایپ

توالی منحصر به فرد اسید آمینه دومن‌های V_H و V_L یک آنتی‌بادی، نه تنها می‌توانـد بـه عنوان جایگاه اتصال به آنتی‌ژن عمل نماید بلکه مجموعه‌ای از شاخص‌هـای آنتـی‌ژنـی نیـز می‌باشد. شاخص‌های ایدیوتایپ از توالی نواحی متغیر زنجیره‌های سبک و سنگین بـه وجـود می‌آیند. (شکل ۲۲-۴).

www.bbooks.ir



شکل ۲۲-۴: ساختار کلی پذیرنده سلول B: این پذیرنده متصل شونده به آنتی ژن از یک ایمونوگلبولین غشایی (mIg) و هترودایمرهای متصل شونده با پیوند دی سولفید تحت عنوان Ig-α و Ig-β تشکیل شده است. هر یک از هترودایمرها دارای ساختار چین ایمونوگلبولینی و دم های سیتوپلاسمی می باشد که طویل تر از دم های سیتوپلاسمی mIg می باشد.

هر آنتی‌بادی چندین ایدیوتوپ را عرضه می‌کند که برخی از آنها واقعاً در جایگاه اتصال به آنتی‌ژن قرار گرفته و در برخی دیگر در خارج از توالی ناحیه متغیر اتصال به آنتی‌ژن می‌باشند. مجموعه ایدیوتوپ‌های منحصر به فرد، ایدیوتایپ آنتی‌بادی نامیده می‌شوند.

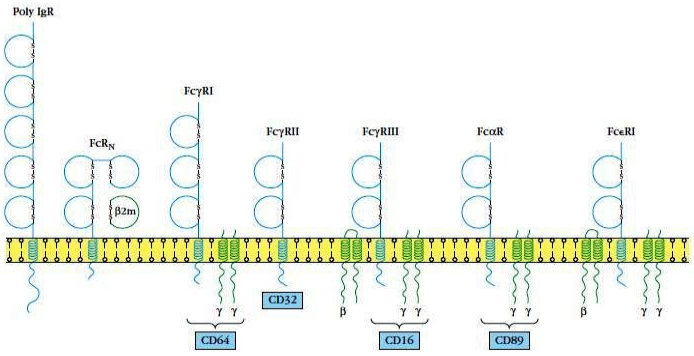
به دلیل این که آنتی‌بادی‌های تولید شده از سلول‌های B منحصر به فرد دارای توالی ناحیه متغیر یکسانی می باشند، همگی آنها دارای ایدیوتایپ‌های مشابه می‌باشند. آنتی‌بادی ضد ایدیوتایپ، با تزریق آنتی‌بادی‌هایی که حداقل تغییرات را از لحاظ ایزوتایپ و آلوتایپ با یکدیگر دارند، ایجاد می‌شود، به گونه‌ای که تفاوت‌های ایدیوتایپی آنها را بتوان شناسایی نمود.

www.bbooks.ir

- پذیرنده های Fc به نواحی Fc آنتی بادی‌ها اتصال می‌یابند

اگر چه بیوستنزو عرضه سطحی ایمونوگلبولین ها منحصر به رده سلولی B مـی‌شـود ولـی شمار بسیاری از سلول‌ها گلیکوپروتئین ها غشایی با نام پذیرنده‌هـای Fc (FCR) را عرضـه می‌کنند که دارای میل پیوندی بـرای بخـش Fc مولکـول آنتـی‌بـادی ترشـحی مـی‌باشـند. پذیرنده‌های Fc مسئول انتقال آنتی‌بادی ها از میان غشای سلولی و همچنـین انتقـال IgG از مادر به جنین از طریق جفت می‌باشند. این پذیرنده‌ها همچنین این امکان را فراهم می‌آورند تا بسیاری از انواع سلول‌ها بـه صـورت غیـر فعـال آنتـی‌بـادی را کسـب کننـد؛ در نتیجـه پذیرنده‌های Fc بوسیله این آنتی‌بادی‌هـا از ابزارهـایی را ایجـاد مـی‌کننـد کـه بوسـیله آن، سلول‌های کلیدی ایمنی ذاتی همچون ماکروفاژها و NKها به سمت آنتی‌ژن فراخوانده شوند. درگیری آنتی‌بادی متصل به آنتی‌ژن با پذیرنده‌های Fc سطح ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها یک پیام مؤثر برای فاگوستیوز کارآمد مجموعه آنتی‌ژن-آنتی‌بادی را فراهم می‌کند.

پذیرنده های Fc متفاوت بسیاری وجود دارند (شکل ۲۳-۴).



شکل ۲۳-۴: ساختار برخی از پذیرنده های Fc انسانی. در این شکل پلی پپتیدهای متصل شونده به Fc و پلی پپتید های انتقال پیام دیده می شود. در این ساختارها حلقه هایی با مشخصه چین Ig وجود دارند. این مولکول‌ها بر روی غشای پلاسمایی انواع سلول ها مشاهده می شوند که به عنوان آنتی ژن های سطحی تلقی شده و بسیاری از آنها متعلق به خانواده CDها می باشند. FcγRII سه شکل مختلف دارد که عبارتند از A، B1 و B2 که در نواحی خارج سلولی خود با یکدیگر متفاوت می باشند.

www.bbooks.ir

پذیرنده poly-Ig برای انتقال Igهای پلیمری از میان سلول‌های اپی‌تلیال ضروری می‌باشد. در انسان پذیرنده Fc جنینی (IgG(FcRnها را از مادر به جنین درحال رشد انتقال می‌دهد و همچنین در تنظیم میزان IgG سرمی نقش دارد. پذیرنده‌های Fc برای بسیاری از رده‌های Ig شناخته شده‌اند. بدین‌گونه که FcαR به IgA وFcεR به IgE متصل می‌شود (شکل ۳۰-۴) و چندین FcγR (RIII، RIIB2، RIIB1، RIIA و RI) در انسان یافت شده‌اندکه قادرند به IgG و زیر رده‌های آن متصل شوند. اتصال متقاطع این پذیرنده‌ها توسط مجموعه آنتی‌ژن-آنتی‌بادی، آبشار انتقال پیامی را به راه می‌اندازد که پیامدهایی چون بیگانه‌خواری یا ADCC را به دنبال خواهد داشت. پذیرنده‌های Fc اغلب بخشی از یک مجموعه انتقال پیام می‌باشند که سایر زنجیره‌های پلی‌پپتیدی کمکی نیز در آن شرکت دارند. همان‌گونه که در شکل ۲۳-۴ نشان داده شده است، این مجموعه ممکن است شامل یک جفت زنجیره γ و یک زنجیره β باشد. پیوستگی یک پذیرنده خارج سلولی با یک واحد پیام‌رسان داخل سلولی در پذیرنده سلول B مشاهده می‌شود (شکل ۲۲-۴) و از خصوصیات عمده TCR نیز می‌باشد.

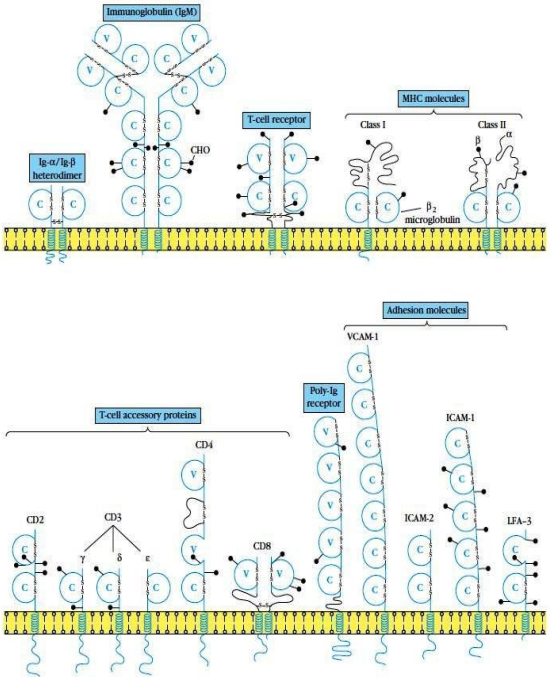
- خانواده بزرگ ایمونوگلبولین‌ها

ساختار زنجیره‌های سبک وسنگین Igهای گوناگون که بیشتر توصیف شد، چندین خصیصه مشترک دارندو این امر حاکی از آن است که از لحاظ تکاملی، از یک دودمان مشترک منشأ گرفته‌اند (شکل ۸-۴). حضور این مشخصه ساختاری در تمام زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلبولین‌ها حاکی از آن است که ژن‌های کد کننده آنها از یک ژن مشترک بسیار کهن به وجودآمده‌اند. مضاعف‌شدگی ژنی و انشعاب پس از آن می‌توانند ژن‌های زنجیره سبک و سنگین گوناگونی را ایجاد کنند.

مشاهده شده که شمار بسیاری از پروتئین‌های غشایی، حاوی یک یا چند ناحیه همسان با دومن ایمونوگلبولین می‌باشند.

www.bbooks.ir

هر کدام از این پروتئین‌های غشایی عضوی از یک خانواده بزرگ با نام خانواده بزرگ ایمونوگلبولین می‌باشند. واژه خانواده بزرگ، برای نمایش پروتئین‌هایی به کار می‌رود که ژن‌های آنها از یک ژن مشترک بسیار کهن مشتق شده‌اند. پروتئین‌های ذیل به انضمام خود ایمونوگلبولین‌ها اعضایی از خانواده بزرگ ایمونوگلبولین‌ها می‌باشند(شکل ۲۴-۴):



شکل ۲۴-۴: برخی اعضای خانواده بزرگ ایمونوگلبولین که از لحاظ ساختاری با یکدیگر مشابه بوده و معمولاً گلیکوپروتئین های غشایی می باشند. در تمام موارد این شکل به جز β_2 میکروگلبولین، انتهای کربوکسیل مولکول ها در غشا می باشد.

- هترودایمرهای Igβ/Igα که بخشی از BCR می‌باشند.
- پذیرنده سلول T
- پروتئین‌های کمکی سلول T شامل : CD4،CD8، CD28 ، CD2 و زنجیره های γ، δ، ε مولکول CD3

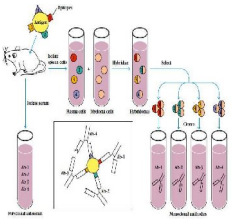
www.bbooks.ir

- مولکول های MHC کلاس I و II
- β2 – میکروگلبولین (یک پروتئین نامتغیر همراه با مولکول‌های MHC-I)
- مولکول‌های چسبان سلولی گوناگون شامل ICAM-1، LFA-3، VCAM-1و ICAM-2
- عامل رشد مشتق از پلاکت ها

بیشتر اعضای خانواده بزرگ ایمونوگلبولین نمی‌توانند به آنتی‌ژن اتصال یابند. بنابراین، ساختار ویژه چین ایمونوگلبولین موجودی در بسیاری از پروتئین‌های غشایی، بایستی عملکرد دیگری غیر از اتصال به آنتی‌ژن داشته باشد. احتمالاً چنین ایمونوگلبولین، برهمکنش میان پروتئین‌های غشایی را تسهیل می‌نماید. همان‌گونه که بیشتر توضیح داده شد، این برهمکنش‌ها می‌توانند بین صفحات βدو دومن همسان ایمونوگلبولین (مثل (C_H2/C_H2) یا دومن‌های غیر همسان (مثل V_H/V_L و C_H1/C_L) صورت پذیرند.

- آنتی‌بادی‌های منوکلونال

بیشتر آنتی‌ژن‌ها دارای چندین اپی‌توپ می‌باشند و به همین دلیل تکثیر و تمایز کلون های سلولB گوناگونی را القا می‌کنند که هر کدام از یک سلول B مشتق می‌شوند که یک اپی‌توپ خاص را شناسایی می‌کند(شکل ۲۵-۴).



شکل ۲۵-۴: تولید آنتی بادی منوکلونال در پاسخ به یک آنتی ژن شامل مخلوطی از آنتی بادی های منوکلونال می باشد که هر یک ویژه یکی از چهار اپی توپ آنتی ژن می باشد. در مقابل، یک آنتی بادی منوکلونال که از یک پلاسماسل خاص ترشح شده است، برای یکی از اپی توپ های آنتی ژن اختصاصی می باشد. اساس روش‌ها جهت تهیه آنتی بادی منوکلونال در شکل به نمایش در آمده است.

www.bbooks.ir

چنین پاسخ آنتی‌بادی پلی‌کلونالی سبب تسهیل تجمع، بیگانه‌خواری و لیز آنتی‌ژن با واسطه کمپلمان می‌گردد؛ بنابراین مزیتی آشکار برای حیوان می‌باشد. اما متاسفانه ناهمگنی آنتی‌بادی که سبب افزایش محافظت ایمنی در موجود زنده می‌شود، اغلب کارآمدی یک آنتی‌سرم برای استفاده‌های گوناگون در محیط آزمایشگاه را کاهش می‌دهد. برای بیشتر تحقیقات، تشخیص و اهداف درمانی، آنتی‌بادی‌های منوکلونال که تنها از یک کلون مشتق شده و تنها برای یک اپی‌توپ ویژگی دارند. ترجیح داده می‌شوند.

تخلیص شیمیایی آنتی‌بادی منوکلونال از یک نمونه حاوی آنتی‌بادی پلی‌کلونال ، امکان پذیر نمی‌باشد. در سال ۱۹۷۵، میلستین و کهلر روشی را برای تهیه آنتی‌بادی منوکلونال اختراع نمودند که به سرعت به یکی از فناوری های کلیدی ایمونولوژی تبدیل شد. با الحاق یک سلول B طبیعی و ترشح کننده آنتی‌بادی با یک سلول میلوما، آنها قادر به تولید یک سلول هیبرید به نام هیدبدوما که مقادیر بسیاری آنتی‌بادی منوکلونال ترشح می‌کنند را می‌توان به طور نامحدود کشت داد. با اهدای جایزه نوبل به این دو دانشمند از کارهای آنها تقدیرشد.

- آنتی‌بادی‌های منوکلونال، کاربردهای بالینی با اهمیتی دارند

فواید تشخیص، تصویر برداری و درمانی آنتی‌بادی‌های منوکلونال در پزشکی بالینی اثبات شده می‌باشد. در ابتدا، آنتی‌بادی‌های منوکلولنال به عنوان معرف‌های تشخیص در محیط آزمایشگاه کاربر داشتند. امروزه بسیاری از معرف‌های تشخیص آنتی‌بادی منوکلونال جهت تشخیص بارداری، شمار بسیاری از میکروارگانیسم‌های پاتوژن، سنجش مقادیر خونی انواع داروها، تعیین همسانی آنتی‌ژن‌های سازگاری بافت و تشخیص آنتی‌ژن‌های رها شده از برخی تومورها، تولید می‌شوند.

همچنین آنتی‌بادی‌ها منوکلونال نشاندار با رادیواکتیو را می‌توان در جانوران برای تشخیص مکان‌یابی آنتی‌ژن‌های توموری و همچنین امکان تشخیص زودهنگام برخی تومورهای اولیه

www.bbooks.ir

یا متاستازی در بیماران به کار برد. همان‌گونه که در تمرکز بالینی بحث شد، استفاده از آنتی‌بادی به عنوان عامل درمانی، تاریخچه طولانی دارد. به تازگی دسترسی به آنتی‌بادی‌های منوکلونال و توانایی انسانی نمودن آنها بوسیله روش‌های مهندسی ژنتیک، توانمندی جدیدی به این قلمرو اضافه نموده است. اولین تلاش‌ها برای استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی جهت درمان انسان‌ها، با این امکان مواجه شد که واکنشی قوی علیه این پروتئین های بیگانه به وقوع خواهد پیوست. محصولات اخیر، درسیستم‌های انسانی تولید می‌شوند یا به طریقه ژنتیکی جهت الحاق CDRهای ناحیه V آنتی‌بادی غیر انسانی به ناحیه ثابت و نواحی داربستی آنتی‌بادی انسانی، مهندسی می‌شوند؛ بنابراین امکان ایجاد پاسخ ایمنی علیه آنها به حداقل می‌رسد.

شمار در حال افزایش آنتی‌بادی‌های درمانی تأیید شده وجود داشته و بیش از هزاران عدد از آنها، فرآیندهای تبدیل شدن به دارو را طی می‌کنند. این‌ها چند میلیارد دلار در سال فروش دارند و عمده‌ترین موارد کاربرد آنها، درمان سرطان‌ها و تخفیف شدت ناهنجاری‌های آرتریتی می‌باشد. از میان این محصولات، Rituxan با نام ژنزیکRituximab برای درمان لنفوم غیرهوجکینی و Remicade با نام ژنریکinfliximab یا Humira با نام ژنریک adalimumab برای آرتریت روماتوئید نسبت به سایرین بیشترین کاربرد را دارند. نام ژنریک این داروها اشاره به نوع آنتی‌بادی دارد؛ برای نمونه پسوند Umab اشاره به آنتی‌بادی منوکلونال انسانی و برعکس، imab اشاره به آنتی‌بادی کایمریک دارد.

ابزایم‌ها، آنتی‌بادی‌های منوکلونالی می‌باشند که واکنش‌ها را کاتالیز می‌کنند

اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن از بسیاری جهات مشابه اتصال آنزیم به سوسبترا می‌باشد. در هر دو مورد، اتصال شامل پیوندهای ضعیف و غیرکووالان بوده و ویژگی بالا و اغلب میل پیوندی بالایی را نشان می‌دهند. چیزی که برهمکنش آنتی‌ژن-آنتی‌بادی را از آنزیم – سوسبترا متمایز می‌کند این است که آنتی‌بادی، پیوندهای کووالان مولکول آنتی‌ژن را تغییر

www.bbooks.ir

نمی‌دهد درحالی که آنزیم، تغییر شیمیایی در سوسبترای خویش را کاتالیز می‌کند. با وجود این، همانند آنزیم، ویژگی مناسب آنتی‌بادی می‌تواند حالت گذار یک پیوند سوسبترا را پایدار نموده و در نتیجه انرژی فعال‌سازی جهت تغییر شیمیایی سوسبترا را کاهش دهد.

با توجه به شباهت میان برهمکنش آنتی ژن-آنتی‌بادی و آنزیم- سوسبترا این سئوال مطرح می‌گردد که آیا برخی آنتی‌بادی‌ها می‌توانند رفتاری شبیه آنزیم داشته باشند و واکنش‌های شیمیایی را کاتالیز کنند؟ برای بررسی این امکان، یک مجموعه هاپتن- حامل تولید شد که هاپتن از لحاظ ساختاری با حالت گذرا یک پیوند استری تحت هیدرولیز، همسان بود. سلول‌های طحال موش ایمن شده با این آنالوگ حالت گذار با سلول‌های میلومایی الحاق شدند تا آنتی‌بادی منوکلونال ضد هاپتن ایجاد گردد. وقتی این آنتی‌بادی‌های منوکلونال با سوسبترای استرس مواجه شدند،برخی از آنها با سرعتی تقریباً ۱۰۰۰ برابر بیشتر یاهیدرولیز شدند. بدین معنی که، آنها شبیه آنزیمی عمل می‌کنند که به طور طبیعی هیدرولیز سوسبترا را کاتالیز می‌کنند. فعالیت کاتالیتیک این آنتی‌بادی‌ها بسیار اختصاصی بود، به گونه‌ای که آنها تنها استرهایی را هیدرولیز می‌کردند که ساختار حالت گذار را نشان می‌دادند. این آنتی‌بادی‌های کاتالیتیک بدلیل نقش دوگانه خویش به عنوان آنتی‌بادی و آنزیم، ابزایم نامیده شدند.

هدف اصلی تحقیق درباره آنتی‌بادی‌های کاتالیتیک، ایجاد یک سری از ابزایم‌ها می‌باشد که پیوندهای پپتیدی بین زیرواحدهای ویژه اسید آمینه را ببرند. چنین ابزایم‌هایی، ابزارهای فوق‌العاده گرانبها جهت تحلیل ساختار و عملکرد پروتئین‌ها خواهند بود. به علاوه، امکان تولید ابزایم‌هایی با توان تجزیه لخته خون یا تخریب گلیکوپروتئین‌های ویروسی و مهار عفونت ویروسی وجود دارد. متأسفانه تولید آنتی‌بادی‌های کاتالیتیک که پیوندهای پپتیدی پروتئین را بشکنند، بسیار مشکل می‌باشد. بیشتر تحقیقات امروزی در پی‌یافتن پاسخی برای این مشکل دشوار اما مهم می‌باشند.

www.bbooks.ir

- خلاصه

- تمام ایمنی‌زاها آنتی‌ژن می‌باشند، اما همه آنتی‌ژن‌ها ایمنی‌زا نمی‌باشند. برای نمونه، هاپتن‌ها مولکول‌های کوچک آنتی‌ژنی می‌باشند که تنها زمانی قادر به القای پاسخ ایمنی هستند که با یک مولکول بزرگ کونژوگه شوند.
- ایمنی‌زایی بوسیله عوامل متعددی از جمله بیگانگی، اندازه مولکولی، ترکیب شیمیایی، پیچیدگی، دوز، قابلیت آنتی‌ژن جهت پردازش ژنوتیپ جانور گیرنده، مسیر تزریق و ادجوانت‌ها تعیین می‌گردد.
- آنتی‌بادی‌های محدوده گسترده‌ای از شاخص‌های آنتی‌ژنی را شناسایی می‌کنند. آنتی‌ژن‌های کوچک اغلب به شکاف‌های باریک یا حفره‌های عمیق مولکول آنتی‌بادی اتصال می‌یابند. آنتی‌ژن‌های بزرگ‌تر با سطوح مکمل صاف‌تر و بزرگ‌تر آنتی‌بادی واکنش می‌دهند.
- یک مولکول آنتی‌بادی حاوی دو زنجیره سبک مشابه و دو زنجیره سنگین یکسان می‌باشند. زنجیره‌های سبک بوسیله پیوندهای دی‌سولفید به زنجیره‌های سنگین متصل شده و زنجیره‌های سنگین نیز توسط پیوندهای دی‌سولفید به یکدیگر متصل می‌شوند. هر زنجیره آنتی‌بادی حاوی یک ناحیه متغیر در انتهای آمینی و ناحیه ثابت در انتهای کربوکسیل خود می‌باشد.
- در هر مولکول آنتی‌بادی، ناحیه ثابت حاوی یکی از ۵ توالی زنجیره سنگین با نام ایزوتایپ می‌باشد که تعیین‌کننده رده آنتی‌بادی بوده و یا یکی از دو توالی زنجیره سبک (κ یا λ) می‌باشد.
- پنج رده آنتی‌بادی، اعمال اجرایی، میانگین غلظت سرمی و نیمه عمر متفاوتی دارند.
- هر دومن در مولکول ایمونوگلبولین، یک ساختار سوم ویژه می‌باشد که چین ایمونوگلبولین نامیده می‌شود. همچنین حضور دومن چین ایمونوگلبولین نشان می‌دهد

www.bbooks.ir

که بسیاری از پروتئین‌های غیر آنتی‌بادی از اعضای خانواده بزرگ ایمونوگلبولین می‌باشند.

- در میان دومن ناحیه متغیر در انتهای آمینی هر کدام از زنجیره‌های سبک و سنگین، سه ناحیه مکمل آنتی‌ژن (CDRs) وجود دارد. این نواحی پلی‌پپتیدی به عنوان جایگاه اتصال آنتی‌بادی عمل کرده و ویژگی آن را تعیین می‌کنند.
- ایمونوگلبولین‌ها به دو شکل عرضه می‌شوند: آنتی‌بادی‌های ترشحی که توسط پلاسماسل‌ها تولید می‌شوند و آنتی‌بادی‌های غشایی که همراه با هترودایمرهای Igα یا Igβ، پذیرنده آنتی‌ژن درسطح سلول B را تشکیل می‌دهند.
- سه عملکرد اجرایی عمده آنتی‌بادی‌ها شامل موارد زیر می‌باشد:
  - اپسونیزاسیون،که سبب افزایش بیگانه‌خواری آنتی‌ژن توسط ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها می‌شود.
  - فعال‌سازی کمپلمان، که مسیری را فعال می‌کند که منجر به تجمع پروتئین‌ها وسوراخ نموده غشای سلول می‌شود.
  - سیتوتوکسیسیته سلولی وابسته به آنتی‌بادی (ADCC)، که می‌تواند سبب کشتار سلول‌های هدف متصل به آنتی‌بادی شود.
- برخلاف آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال که دز چندین کلون سلول B مشنأ می‌گیرند و حاوی اجتماعی ناهمگن از جایگاههای اتصال می‌باشند، آنتی‌بادی منوکلونال از یک کلون سلول B منشأ گرفته و دارای تنها یک نوع جایگاه اتصال می‌باشد.

- سئوالات درسی

۱- درستی و نادرستی جملات زیر را مشخص کنید. در صورتی که فکر می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلایل خود را بیان کنید.

الف) بیشتر آنتی‌ژن‌ها سبب القای پاسخ در بیش از یک کلون می‌شوند.

www.bbooks.ir

ب)یک آنتی‌ژن پروتئینی بزرگ معمولاً می‌تواند به مولکول‌های آنتی‌بادی متفاوتی اتصال یابد.

پ) هاپتن می‌تواند تولید آنتی‌بادی را تحریک کند، اما نمی‌تواند به مولکول آنتی‌بادی متصل شود.

ت) اپی‌توپ‌های سلولT، زیر واحدهای اسیدآمینه قابل دسترس می‌باشند که به TCR اتصال می‌یابند.

ج) اغلب اپی‌توپ‌های سلول B اسید آمینه‌های غیرپیوسته می‌بّاشند که در ساختار سوم آنتی‌ژن پروتئینی مجاور یکدیگر قرار گرفته‌اند.

چ) همه آنتی‌ژن‌ها ایمنی‌زا هستند.

ح) آنتی‌بادی‌ها می‌توانند به اجزای آبدوست و آبگریز اتصال یابند.

خ) ساختار اولیه بسیار دقیق یک پروتیئن می‌تواند سبب کاهش اپی‌توپ‌های سلولB شود.

۲- برای هر جفت آز آنتی‌ژن‌های زیر، نشان دهید که تزریق کدام‌یک از آنها به خرگوش ایمنی‌زاتر می‌باشد، پاسخ خود را توضیح دهید.

الف) سرم آلبومین گاوی(BSA) دست نخورده، BSA دناتوره شده توسط حرارت

ب) لیزوزیم سفیده تخم مرغ (HEL)، کلاژن مرغ

پ) یک پروتئین با وزن مولکولی ۳۰۰۰۰۰ دالتون، یک پروتئین با وزن مولکولی ۱۵۰۰۰۰ دالتون

ت) BSA همراه با ادجوانت کامل فروند، BSA همراه با ادجوانت ناقص فروند

۳- با توجه به هاپتن و حامل، کدام یک از جملات زیر صحیح می‌باشد؟

الف) هاپتن یک مولکول بزرگ پروتئنی مانند BSA می‌باشد.

ب) وقتی یک مجموعه هاپتن – حامل دارای چندین مولکول هاپتن به یک حیوان تزریق شود، بیشتر آنتی‌بادی‌های القا شده ویژه هاپتن می‌باشند.

www.bbooks.ir

پ) حامل‌ها تنها برای تحریک پاسخ سلولی مورد نیاز می‌باشند.

ت) برای این که مستقیماً علیه هاپتن آنتی‌بادی به دست آوریم، ایمونیزاسیون با مجموعه هاپتن – حامل ضروری می‌باشد.

ث) حامل‌ها مولکول های کوچکی مانند دی‌نیتروفنول و اسید پنی‌سیلنیک می‌باشند.

۴- کدام‌یک از جملات زیر در مورد اپی‌توپ‌های سلول B، اپی‌توپ‌های سلول T و اپی‌توپ‌های هر دو سلول B و T توصیف صحیحی را ارائه می‌دهد.

الف) آنها اغلب حاوی توالی خطی از زیر واحدهای اسید آمینه می‌باشند.

ب) آنها معمولاً در سطح آنتی‌ژن پروتئینی قرار دارند.

پ) آنها معمولاً در درون آنتی‌ژن پروتئینی قرار دارند.

ت) در صورت دناتوره شدن توسط حرارت، ایمنی زایی خود را از دست می‌دهند.

ث) اپی‌توپ‌های غالب ایمنی، تاحدی توسط مولکول‌های MHC عرضه شده در یک شخص تعیین می‌شوند.

ج) آنها عموماً پروتئینی می‌باشند

چ) چندین اپی‌توپ متفاوت ممکن دریک آنتی‌ژن باشند.

ح) ایمنی‌زایی آنها وابسته به ساختار سه بعدی آنتی‌ژن می‌باشد.

خ) پاسخ ایمنی به آنها، در صورت تزریق هم‌زمان با ادجوانت کامل فروند افزایش می‌یابد.

۵- درستی یا نادرستی جملات زیر را مشخص کنید، در صورتی که فکر می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

الف) یک خرگوش ایمن شده با IgG3 انسانی، آنتی‌بادی تولید خواهد نمود که با تمام زیررده‌های IgG انسان واکنش می‌دهد.

ب) تمام مولکول‌های ایمونوگلبولین سطح یک سلول B، ایدیوتایپ مشابه دارند.

پ) تمام مولکول‌های ایمونوگلبولین سطح یک سلول B، ایزوتایپ مشابه دارند.

www.bbooks.ir

ت) تمام مولکول‌های پروتئین میلوما که از یک کلون میلومایی مشتق می‌شوند، ایدیوتایپ و آلوتایپ مشابه دارند.

ث) با وجود آن که IgA دایمر عمده‌ترین گونه آنتی‌بادی می‌باشد که تحت ترانسیتوز قرار می‌گیرد، IgM پنتامر نیز می‌تواند ترانسیتوز شود.

ج) نواحی فوق‌العاده متغیر، بیش‌ترین تماس را با اپی‌توپ دارند.

چ) عملکرد IgG در آگلوتیناسیون باکتری‌ها بسیار کارآمدتر از IgM می‌باشد.

ح)اگر چه آنتی‌بادی‌های منوکلونال، بیشتر مواقع در تحقیقات و اهداف تشخیص ترجیح داده می‌شوند اما هر دو آنتی‌بادی‌های منوکلونال و پلی‌کلونال بسیار اختصاصی می‌باشند.

خ) به طور طبیعی در هر عضو یک گونه، تمام ایزوتایپ‌ها وجود دارند.

د) طول ناحیه متغیر زنجیره سنگی(V_H) دو برابر طول ناحیه متغیر زنجیره سبک (V_L) می‌باشد.

۶- شما یک دانشجوی فعال ایمونولوژی هستید که پروتئین x را جدا کرده‌اید و معتقدید که ایزوتایپ جدیدی از ایمونوگلبولین‌های انسانی می‌باشد.

الف) پروتئین x بایستی دارای چه خصوصیات ساختمانی باشد تا بتوان آن را جزو ایمونوگلبولین‌های انسانی طبقه‌بندی نمود.

ب) شما آنتی‌سرم‌های خرگوشی برای کل مولکول IgGانسانی،زنجیره κ و زنجیره γ انسانی آماده کرده‌اید. با فرض این که پروتئین x یک ایزوتایپ جدید ایمونوگلبولین باشد، به کدام یک از این آنتی‌سرم‌ها متصل می‌شود؟ چرا؟

پ) آزمایشی برای تولید آنتی‌سرم اختصاصی برای پروتئین x طراحی کنید.

۷- مطابق با فرضیه گزینش کلونی،تمام مولکول‌های ایمونوگلبولین یک سلول B، ویژگی آنتی‌ژنی یکسانی دارند. توضیح دهید که چرا عرضه همزمان IgD و IgM روی یک

www.bbooks.ir

سلول B، با تک ویژگی‌بودن که بوسیله فرضیه گزینش کلونی بیان می‌شود، در تضاد نمی‌باشد.

۸- IgG در طول تکامل بسیار دیرتر از IgM به وجود آمده است. فواید ومعایب IgG را در مقایسه با IgM بیان کنید.

۹- اگر چه ۵ ایزوتایپ ایمونوگلبولین از بسیاری از جهات دارای ساختاری مشابه می‌باشند ولی اختلافات ساختاریشان روی فعالیت زیستی آنها تأثیر می‌گذارد.

الف) شکل شماتیکی از مولکول IgG رسم نمایید و بخش‌های زیر را در آن مشخص نمایید: زنجیره‌های H، زنجیره‌های L، اتصالات دی‌سولفید بین زنجیره‌ای، اتصالات دی‌سولفید داخل زنجیره‌ای،ناحیه لولا، Fab، Fc و تمام دومن‌ها. نشان دهید کدام دومن‌ها در اتصال به آنتی‌ژن دخیل می‌باشند.

ب) چه طور تصویری را که برای IgG رسم کرده‌اید، برای ترسیم تصویر مولکولIgA (جدا شده از بزاق) تغییر خواهید داد؟

پ)چه طور تصویر IgG را برای ترسیم IgMسرمی تغییر خواهید داد؟

۱۰-جدول زیر را که مربوط به خصوصیات مولکول IgGو بخش‌های مختلف آن می‌باشد را پر کنید. اگر مولکول، چنین خصوصیتی را نشان می‌دهد با (+) و اگر مولکولی چنین خصوصیتی را نشان نمی‌دهد با (-) و اگر به میزان ضعیفی چنین خصوصیتی را نشان می‌دهد با (-/+) مشخص کنید.

www.bbooks.ir

Property	Whole IgG	H chain	L chain	Fab	$F(ab')_2$	Fc
Binds antigen						
Bivalent antigen binding						
Binds to Fc receptors						
Fixed complement in presence of antigen						
Has V domains						
Has C domains						

۱۱-به دلیل این که مولکول های ایمونوگلبولین دارای شاخص‌های آنتی‌ژنی می‌باشند، خودشان می‌توانند به عنوان ایمنی‌زا عمل کرده و تولید آنتی‌بادی را القا نمایند. برای هریک از طرح‌های ایمن‌سازی زیر، نشان دهید که آنتی‌بادی ضد ایمونوگلبولین شکل گرفته برعلیه کدام شاخص ایزوتایپ (IS)، آلوتایپ (AL) یا ایدیوتایپ (ID) می‌باشد؟

الف) آنتی‌بادی ضد DNPتولید شده توسط موش BALB/c به موش C57BL/6تزریق می‌شود.

ب) آنتی‌بادی منوکلونال ضد BCG از موش BALB/c به یک موش BALB/c دیگر تزریق شود.

پ)آنتی‌بادی منوکلونال ضد BCG از موش BALB/c به خرگوش تزریق شود.

ت) آنتی‌بادی ضد DNPتولید شده در موش BALB/c به یک موش برونزا تزریق شود.

ث) آنتی‌بادی ضد BCG تولید شده در موش BALB/c به همان موش تزریق شود.

www.bbooks.ir

۱۲-با بله و خیر نشان دهید که آیا آنتی‌سرم‌های خرگوش نوشته شده در بالای جدول با اجزای آنتی‌بادی موشی سمت چپ جدول واکنش می‌دهند.

	γ chain	κ chain	IgG Fab fragment	IgG Fc fragment	J chain
Mouse γ chain					
Mouse κ chain					
Mouse IgM whole					
Mouse IgM Fc fragment					

۱۳-خصوصیات ساختاری دومن‌های ایمونوگلبولین در شمار بسیاری از اعضای پروتئینی خانواده بزرگ ایمونوگلبولین نیز وجود دارند.

الف) جنبه‌های بارزی که ساختار دومن چین ایمونوگلبولین را تعیین می‌کنند، توصیف کنید.

ب) پروتئینهای متعلق به خانواده بزرگ ایمونوگلبولین را بررسی کنید. چه چیزی درتمام این پروتئین‌ها مشترک می‌باشد؟ دو عضو متفاوت از خانواده بزرگ ایمونوگلبولین را که به آنتی‌ژن اتصال می‌یابند، شرح دهید. چهار عضو از این خانواده که به آنتی‌ژن اتصال نمی‌یابند را نام ببرید.

۱۴-جایگاه نواحی CDR و عملکردشان را در مولکول آنتی‌بادی مشخص کنید.

۱۵-تغییرات توالی اسیدآمینه در هر موقعیت در یک زنجیره پلی‌پپتید می‌تواند با واژه کمّی تغییرپذیری نشان داده می‌شود.

الف) بیشترین و کمترین میزان ممکن است برای تغییرپذیری چقدر می‌باشد؟

ب) انتظار دارید که نمودار تغییرپذیری یک آنزیم در چندین گونه از پستانداران چگونه با یک گروه از ایمونوگلبولین‌های انسانی متفاوت باشد؟

www.bbooks.ir

۱۶-یک محقق می‌خواهد آنتی‌سرم خرگوشی ویژه IgG موش بسازد. او با تزریق IgG خالص موش، آنتی‌سرمی به دست آورد که با IgG موش به شدت واکنش می‌داد. او متعجب شد زیرا آنتی‌سرم با سایر ایزوتایپ‌های موش نیز واکنش می‌داد. توضیح دهید چرا او چنین نتایجی را به دست آورد. او چگونه می‌تواند آنتی‌سرم خرگوشی ویژه IgG موشی بسازد؟

۱۷-شما سلول‌های طحال با ژنوتیپ ایمونوگلبولین طبیعی برای زنجیره سنگین و سبک را با سه سلول میلومایی متفاوت که ژنوتیپ ژن‌های ایمونوگلبولین آنها به صورت زیر می‌باشد الحاق کرده‌اید: L^+ و $(a)H^+$ ؛ L^- و $(b)H^+$ ؛ L^- و $(c)H^-$. برای هر هیبریدوما پیش‌بینی کنید که چه تعداد جایگاه منحصر به فرد اتصال به آنتی‌ژن (مرکب از یک زنجیره H و یک L) به صورت تئوری می‌تواند تولید شود و ساختار زنجیره‌ای مولکول آنتی‌بادی ممکن را نشان دهید. برای هر مولکول آنتی‌بادی نشان دهید که آیا زنجیره‌های آن از طحال منشأ گرفته‌اند (S) یا از میلوما (M)؟

۱۸-برای هر ایزوتایپ ایمونوگلبولین (الف- ث) یکی از تعاریف زیر را انتخاب کنید که توصیف کننده آن ایزوتایپ باشد. هر تعریف ممکن است هر تعریف یک یا بیش از یک بار استفاده شود و یا اصلاً به کار نرود.

الف) IgA　　ب) IgD　　پ) IgE

ت) IgG　　ث) IgM

تعاریف:

(۱) فرم ترشحی آن، پنتامری از واحد پایه H_2L_2 می‌باشد.

(۲) به پذیرنده‌های Fc روی ماست‌سل متصل می‌شود.

(۳) فرم مولتی‌مری، حاوی زنجیره J می‌باشد.

(۴) روی سطح سلول‌های B بالغ و دست نخورده وجود دارد.

(۵) فراوان‌ترین ایزوتایپ موجود در سرم

www.bbooks.ir

(۶) آنتی‌بادی عمده در ترشحاتی مانند بزاق، اشک و شیر

(۷) روی سطح سلول‌های B نابالغ حضور دارد.

(۸) اولین آنتی‌بادی سرمی که در پاسخ ایمنی اولیه ساخته می‌شود.

(۹) نقش مهمی در ازدیاد حساسیت فوری ایفا می‌کند.

(۱۰) در محافظت علیه پاتوژن‌هایی که از طریق مخاط گوارشی و تنفسی حمله می‌کنند، نقش مهمی ایفا می‌کند.

(۱۱) فرم مولتی مری ممکن است حاوی جزء ترشحی باشد.

(۱۲) ایزوتایپی که کمترین میزان را در سرم داراست.

۱۹- شما به تازگی ساخت یک آنتی‌بادی منوکلونال ضد پذیرنده سطحی سلول همراه با تیروزین کنیاز را به اتمام رسانده‌اید. وقتی آنتی‌بادی به پذیرنده‌های عرضه شده روی سلول‌ها متصل می‌شود، شما می‌بینید که سلول به جای مهار شدن، تحریک می‌گردد. یک توضیح قابل قبول برای این نتایج بیان کنید. چه‌طور می‌توانید آنتی‌بادی را به منظور کاهش واکنش تحریکی آن تغییر دهید، اگر آنتی‌بادی، اتصال به لیگاند را مهار کند، آیا می‌توانید آن را تشخیص دهید؟

۲۰- IgG می‌تواند از مادر به جنین درحال تکوین انتقال یابد و ایمنی محافظتی علیه آنتی‌ژن‌هایی که مادر با آنها روبرو شده را از سه ماهه سوم به بعد به جنین اعطا کند. از چه طریق دیگری که مادر می‌تواند پس از تولد، محافظت ایمنی را به نوزاد خود اعطا کند؟

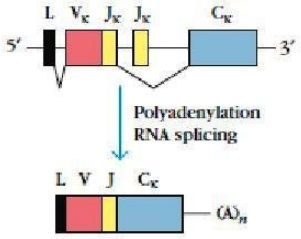
www.bbooks.ir

فصل پنجم

سازمان‌دهی و بیان ژن‌های ایمونوگلبولین

- شکل‌گیری یک مدل ژنتیکی سازگار با ساختار ایمونوگلبولین
- سازماندهی چند ژنی ژن‌های ایمونوگلبولین
- بازآرایی‌های ژنی ناحیه متغیر
- مکانیسم‌های بازآرایی DNA ناحیه متغیر
- شکل‌گیری تنوع آنتی‌بادی
- تغییر کلاس در ژن‌های ناحیه ثابت
- بیان ژن‌های ایمونوگلبولین
- ساخت، تجمع و ترشح ایمونوگلبولین‌ها
- تنظیم رونویسی ژن ایمونوگلبولین
- ژن‌ها و مهندسی ژنتیکی آنتی‌بادی

www.bbooks.ir



یکی از ویژگی‌های مهم سیستم ایمنی مهره‌داران، توانایی آن برای پاسخ بـه آنتـی‌ژن‌هـای نامحدود بیگانه می‌باشد. با مطالعه توالی مولکول‌های ایمونوگلبولین مشخص می‌گردد که هر مولکول آنتی‌بادی در ناحیه متغیر خود، یک توالی اسیدآمینه‌ای خاص داشته ولی در ناحیـه ثابت، دارای یکی از توالی‌های محدود ناحیه ثابت می‌باشد. اساس ژنتیکی این تنوع دائمـی و تدریجی در یک مولکـول پروتئینـی، در سـازماندهی ژنتیکـی مولکـول ایمونوگلبـولین نهفتـه می‌باشد.

در DNA **رده زایا**[1]، چندین قطعه ژنتیکی وجود دارند که پروتئین‌های زنجیـره سـبک یـا سنگین یک ایمونوگلبولین را کد می‌کنند. این توالی‌ها در **سلول‌های زایا**[2] حضور دارند ولی تا زمانی که به صورت ژن‌های عملکردی، سازماندهی نشوند، عمل رونویسی و ترجمه بـر روی آنها صورت نگرفته و زنجیره کامل شکل نمی‌گیرد. در طی بلوغ لنفوسـیت‌هـای B در مغـز استخوان، قطعات مشخصی از این مجموعه ژنی بـه صـورت تصـادفی توسـط یـک سیسـتم ژنتیکی پویا انتخاب می‌شوند که قادر به ایجاد بیش از $۱۰^{۶}$ ترکیب مختلف خواهند بـود. در مرحله بعد که افزایش تنوع در گنجینه جایگاه‌های اتصال مولکول آنتی‌بادی ایجاد مـی‌شـود، این تنوع به بیش از $۱۰^{۸}$ خواهد رسید. طی تکامـل سـلول‌هـای B، رونـد بلـوغ سـلول‌هـای پیش‌ساز B شامل یک‌سری وقایع بازآرایی ژنتیکی بوده که با اصلاحات ژنتیکی همراه شـدو در نهایت تنوع محصولات نهایی را رقم خواهد زد. در انتهای این روند، یک سـلول B بـالغ،

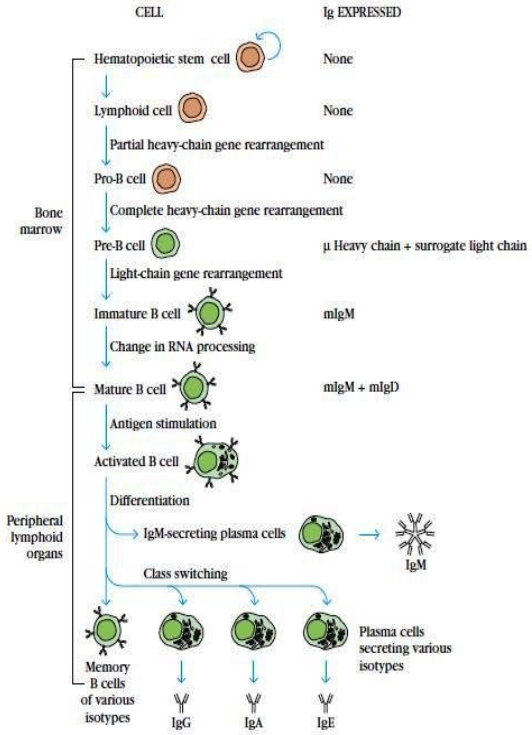
1- germ-line
2- germ cells

www.bbooks.ir

دارای توالی‌های کدکننده برای یک ناحیه متغیر زنجیره سنگین و یک ناحیه متغیر زنجیره سبک خواهد بود که تعیین کننده ویژگی مولکول آنتی‌بادی و سلول B می‌باشند. پس از تحریک آنتی‌ژنی یک سلول B بالغ در اعضای لنفاوی محیطی، بازآرایی‌های بعدی در قطعات ژنتیکی ناحیه ثابت، منجر به تغییر در ایزوتایپ آنتی‌بادی گردیده که بدون تغییر در ویژگی آن، موجب تغییر در فعالیت‌های بیولوژیک آنتی‌بادی می‌شود. بنابراین، DNA کروموزومی سلول‌های B بالغ، دیگر با DNA سلول‌های رده زایا یکسان نمی‌باشد. با وجودی که تصور بر این است که DNA ژنومی، یک نسخه پایدار می‌باشد، ولی رده سلولی لنفوسیتی این کپی را حفظ نمی‌کند. بازآرایی ژنتیکی یکی از ویژگی‌های اصلی تمایز لنفوسیتی بوده و هیچ‌کدام از سایر سلول‌های مهره‌داران، این روند را طی نمی‌کنند.

این فصل ابتدا به جزئیات سازماندهی ژن‌های ایمونوگلبولین، فرآیند بازآرایی ژن ایمونوگلبولین و مکانیسم‌هایی که توسط آنها سیستم پویای ژنتیکی ایمونوگلبولین، تمایز یافته و بیش از $۱۰^{۸}$ نوع ویژگی آنتی‌ژنی متفاوت تولید می‌کند، می‌پردازد. سپس، مکانیسم تغییر ایزوتایپ، نقش تمایزی پردازش RNA در بیان ژن ایمونوگلبولین و تنظیم ترجمه ژن ایمونوگلبولین را توضیح می‌دهد. این بخش، با کاربرد دانسته‌های ما از بیولوژی مولکولی ژن‌های ایمونوگلبولین در زمینه مهندسی مولکول‌های آنتی‌بادی در کاربردهای درمانی و تحقیقاتی خاتمه می‌یابد. فصل ۱۱ کل روند تکامل سلولهای B را از بازآرایی‌های اولیه ژنتیکی سلول‌های پیش‌ساز B تا تمایز نهایی و تبدیل آنها به سلول‌های B خاطره‌ای و پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی را پوشش می‌دهد. شکل ۱-۵ مراحل تکامل سلولB را نشان می‌دهد.

www.bbooks.ir



شکل مروری ۱-۵: تکوین سلولی B. وقایعی که طی بلوغ در مغز استخوان رخ می دهد هیچ نیازی به آنتی ژن ندارد. در حالی که فعال شدن و تمایز سلول های B بالغ در اندام های لنفاوی محیطی مستلزم وجود آنتی ژن می باشد. mIgM و mIgD معرف Ig های غشایی می باشند. IgE، IgA و IgG ایمونوگلبولین های ترشحی هستند.

- تشریح یک مدل ژنتیکی مطابق با ساختمان ایمونوگلبولین

نتایج تجزیه و تحلیل توالی ایمونوگلبولین که در فصل ۴ توضیح داده شدند تعدادی از ویژگی‌های ساختاری ایمونوگلبولین را نشان می‌دادند که به سختی با مدل کلاسیک ژنتیکی تطابق داشتند. هر مدل از ژن‌های ایمونوگلبولین باید با ویژگی‌های آنتی‌بادی که در ادامه به آنها اشاره می‌شود، مطابقت داشته باشند:

www.bbooks.ir

- تنوع زیاد در ویژگی‌های آنتی‌بادی

- حضور یک ناحیه متغیر در انتهای آمینی و یک ناحیه ثابت در انتهای کربوکسیل زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلبولین.
- وجود ایزوتایپ‌هایی با ویژگی آنتی‌ژنی یکسان که از همراهی نواحی ثابت و متغیر زنجیره‌های سنگین مختلف حاصل می‌شوند.

- مدل‌هایی با تنوع رده زایا و تنوع پیکره‌ای جهت توضیح تنوع آنتی‌بادی

ایمونولوژیست‌ها به مدت چندین دهه به دنبال مکانیسم‌های ژنتیکی بودند که بتوانند تنوع ساختار آنتی‌بادی‌ها را شرح دهند. در این زمینه دو تئوری مختلف شکل گرفت. **تئوری‌های رده زایا**[1] براین باور بودند که ژنوم توزیع شده توسط سلول‌های زایا- اسپرم و تخمک- دارای یک منبع ژنی ایمونوگلبولین بزرگ هستند. این تئوری‌ها هیچ‌گونه مکانیسم ژنتیکی خاصی را برای توضیح تنوع آنتی‌بادی‌ها متصور نمی‌شدند. آنها بر سر این موضوع بحث می‌کردند که میزان کارایی سیستم ایمنی، در اثر تخصیص قطعه‌ای از ژنوم که آنتی‌بادی را کد می‌کند، تعیین می‌گردد. در طرف مقابل **نظریه‌های تنوع پیکره‌ای**[2] بیانگر این نکته هستند که ژنوم حاوی مقادیر نسبتاً کمی از ژن‌های ایمونوگلبولین بوده که از آنها در اثر **نوترکیبی**[3] و **جهش**[4] تعداد زیادی آنتی‌بادی ایجاد می‌شود.

با شناسایی هر چه بیشتر توالی‌های آمینواسیدی ایمونوگلبولین‌ها، مشخص گردید که حتماً باید مکانیسم‌هایی وجود داشته باشند که نه تنها آنتی‌بادی بسازند، بلکه ثبات آنها را نیز حفظ کنند. در این که تنوع توسط مکانیسم‌های رده زایا یا مکانیسم‌های پیکره‌ای ایجاد شود،

1- Germ-line theories
2- somatic variation theories
3- recombination
4- mutation

www.bbooks.ir

یک تضاد به چشم می‌خورد و آن این است که چگونه پایداری **ناحیه ثابت**[1] (C) حفظ می‌شود در حالی که برخی مکانیسم‌های تمایزدهنده، **ناحیه متغیر**[2] (V) را می‌سازند؟

به هر حال نه نظریه اول و نه نظریه دوم نمی‌توانند یک توضیح قانع‌کننده برای این خصوصیت اصلی ایمونوگلبولین بدهند. طرفداران نظریه رده زایا در توضیح یک مکانیسم تعامل برای ایجاد تنوع در قسمت‌های مختلف ژن زنجیره‌های سبک و سنگین ناتوان بودند و طرفداران نظریه تنوع پیکره‌ای نیز قادر به توضیح مکانیسمی که یک ناحیه متفاوت را از ژن‌های زنجیره سبک و سنگین در سلول‌های پیکره ای همراه با ناحیه ثابت ایجاد کند نبودند.

یک ویژگی ساختاری دیگر در ژن‌های ایمونوگلبولین که لازم به شرح است، این می‌باشد که در توالی اسیدآمینه‌ای پروتئین میلومای انسانی به نام Til، توالی یکسانی از ناحیه متغیر هم با ناحیه ثابت زنجیره سنگین μ و هم با ناحیه ثابت زنجیره سنگین γ همراه می‌باشند. چنین پدیده‌ای توسط فردی به نام C.Todd که بر روی خرگوش‌ها مطالعه می‌کردند نیز مشاهده شد. وی دریافت که یک نشانه آلوتیپیک مشخص در ناحیه متغیر زنجیره سنگین می‌تواند با نواحی ثابت زنجیره سنگین μ، γ و α همراه باشد. شاهد دیگر مشاهده شده این بود که یک توالی ناحیه متغیر که موجب یک ویژگی آنتی‌ژنی خاص می‌گردد، قادر خواهد بود که با چندین توالی ناحیه ثابت زنجیره سنگین همراه گردد. به عبارت دیگر، کلاس‌ها یا ایزوتایپ‌های مختلفی از آنتی‌بادی مانند IgG و IgM می‌توانند با توالی‌های یکسانی از ناحیه متغیر بیان شوند.

1- constant region
2- variable region

www.bbooks.ir

مدل یک پلی‌پپتید- دوژن Bennet و Dreyer

در تلاشی برای شناسایی یک مدل ژنتیکی برای ساختار ایمونوگلبولین و در راستای تجربیات قبلی، Bennet و Dreyer در مقاله تئوریکی کلاسیک خود در سال ۱۹۶۵ بیان کردند که دو ژن جداگانه یک زنجیره سبک یا سنگین ایمونوگلبولین را کد می‌کنند: یکی برای منطقه متغیر (V) و دیگری برای منطقه ثابت (C). آنها پیشنهاد کردند که این دو ژن در ساختمان DNA می‌توانند به نحوی کنار یکدیگر قرار گیرند تا یک پیام همبستگی و اتصال ایجاد کنند که در نهایت رونویسی و ترجمه آنها منجر به شکل‌گیری یک زنجیره سبک یا سنگین ایمونوگلبولین گردد. در آن زمان نظریه یک ژن – یک پلی‌پپتید مورد قبول همگان قرار داشت، در نتیجه پیشنهاد آنها یک تحول محسوب می‌شد. به علاوه، آنها نشان دادند که صدها یا هزاران ژن منطقه متغیر در ژنوم رده زایا حضور داشته در حالی که تنها نسخه‌های تکی از ژن‌های کلاس‌ها و زیر کلاس‌های مختلف ناحیه ثابت وجوددارند.

خصوصیت عجیب این مدل ترکیبی که از ترکیب عناصر نظریه‌های تنوع پیکره‌ای و تنوع رده زایا حاصل می‌شد، این بود که این مدل قادر بود تا آن سری از ایمونوگلبولین‌هایی که در آنها یک ناحیه متغیر با چندین ناحیه ثابت همراه شده بود را توضیح دهد. این مدل همچنین می‌توانست با تخصیص یک ژن منطقه ثابت برای هر کلاس یا زیر کلاس ایمونوگلبولین، حفظ فعالیت‌های بیولوژیک عملکردی ایمونوگلبولین‌ها و تنوع زیاد ناحیه متغیر آنها را نیز توضیح دهد.

در ابتدا از مدل بنت- درير به طور غیر مستقیم حمایت می‌شد. مطالعات اولیه بر روی کینتیک هیبریداسیون DNA، با استفاده از پروب DNA نشاندار شده با رادیواکتیو و اختصاصی ناحیه ثابت، نشان دادند که پروب تنها به یک یا دو ژن متصل می‌گردید و این پیش‌بینی را که برای هر کلاس یا زیر کلاس، تنها یک یا دو ژن برای منطقه ثابت وجود دارد را ثابت می‌کرد.

www.bbooks.ir

انفجار تونگاوا – بازآرایی ژن ایمونوگلبولین

در سال ۱۹۷۶ تونگاوا[1] و هوزومی[2] اولین شاهد مستقیم دال بر این که نواحی C و V ایمونوگلبولین‌ها توسط ژن‌های مجزا کد می‌شوند و این که ژن‌ها در مرحله تمایز سلول‌های B بازآرایی می‌شوند را بدست آوردند. با انتخاب DNA از سلول‌های جنینی و سلول‌های میلومای بالغین – سلول‌هایی در مراحل کاملاً مختلف تکامل – تونگاوا و هوزومی از آندونوکلئازهای محدود کننده مختلفی برای تولید قطعات DNA استفاده کردند. این قطعات براساس اندازه جداسازی شدند و از نظر توانایی هیبریدشدن با یک پروب mRNA نشاندار شده با رادیواکتیو، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. دو قطعه مجزای محدود شده از DNA جنینی با mRNA هیبریدشدند. در حالی که تنها یک قطعه محدود شده از DNA میلومای بالغین با همان نمونه هیبرید می‌شد. تونگاوا و هوزومی پیشنهاد کردند که طی تمایز لنفوسیت‌ها از مرحله جنینی به مرحله پلاسماسل‌های کاملاً تمایز یافته (که در این مثال از سلول‌های میلوما استفاده شده بود) ژن‌های نواحی ثابت و متغیر دچار بازآرایی می‌شوند. در جنین، ژن‌های C و V توسط قطعات بزرگ DNA که دارای جایگاه اثر برای آندونوکلئاز محدود کننده هستند، از هم جدا شده‌اند. در طی تمایز، ژن‌های C و V به هم نزدیک شده و توالی DNA حدفاصل آنها حذف می‌گردد. این کار اساس ایمونولوژی را متحول ساخت و در سال ۱۹۸۷ تونگاوا جایزه نوبل را از آن خود نمود.

آزمایشات اولیه تونگاوا خسته کننده و زمان بر بودند و امروزه تکنیک لکه‌گذاری ساترن که بسیار قدرتمندتر می‌باشد جای آن را گرفته است. این روش در کل جهان برای بررسی بازآرایی ژن‌های ایمونوگلبولین استفاده می‌شود و هیبریداسیون با یک پروب نشاندار شده برای بخشی از ژن ایمونوگلبولین نیاز به شستشوی قطعات محدود شده DNA از قطعات ژل را برطرف کرده است. شکل ۲-۵ بازآرایی در لوکوس زنجیره سبک کاپا (κ) را با مقایسه

1- S.Tonegawa
2- N. Hozumi

www.bbooks.ir

قطعات تولید شده توسط هضم DNA از یک کلون سلول‌های B با نمونه گرفته شده از هضم سلول‌های غیر B (مانند سلول‌های کبدی یا اسپرم) را نشان می‌دهد. بازآرایی یک ژن V بخش عظیمی از DNA رده زایا را حذف می‌کند، در نیتجه تفاوت‌هایی بین لوکوس‌های بازآرایی شده و بازآرایی نشده از نظر تعداد و توزیع جایگاههای محدود کننده ایجاد می‌کند و این منجر به تولید الگوهای محدود کننده متفاوت در لوکوس‌های بازآرایی شده و بازآرایی نشده می‌گردد.

سازماندهی چند ژنی ژن‌های ایمونوگلبولین

با کلون کردن و تعیین توالی DNA زنجیره سبک و سنگین ایمونوگلبولین‌ها، پیچیدگی بیشتری نسبت به آنچه که Bennet و Dreyer تصور کرده بودند، آشکار گردید. زنجیره‌های سبک κ و λ و زنجیره‌های سنگین توسط خانواده‌های چند ژنی جداگانه که بر روی کروموزوم‌های مختلف قرار دارند کد می‌شوند (جدول ۱-۵).

TABLE 5-1 Chromosomal locations of immunoglobulin genes in human and mouse

Gene	CHROMOSOME Human	CHROMOSOME Mouse
λ Light chain	22	16
κ Light chain	2	6
Heavy chain	14	12

DNA در رده زایای هر کدام از این خانواده‌های چندژنی ، شامل توالی‌های کدکننده متفاوتی هستند که **قطعات ژنی**[1] نامیده می‌شوند و توسط بخش‌های غیر کدکننده از هم جدا می‌شوند. در طی بلوغ سلول‌های B، این قطعات ژنی دچار بازآرایی شده و کنار یکدیگر قرار می‌گیرند تا ژن‌های عملکردی ایمونوگلبولین خاصی تشکیل شوند.

1- Gene Segments

www.bbooks.ir

هر خانواده ژنی ویژگی‌های خاصی دارد

خانواده زنجیره‌های سبک κ و λ شامل قطعات ژنی V، J و C می‌باشد. قطعات بازآرایی شده VJ نواحی متغیر زنجیره‌های سبک را کد می‌کنند. خانواده زنجیره سنگین شامل قطعات V، D، J و C می‌باشد. قطعات بازآرایی شده ژنی VDJ ناحیه متغیر زنجیره‌های سنگین را کد می‌کنند. در هر خانواده ژنی، قطعات ژنی C، مناطق ثابت را کد می‌کنند. هر قطعه ژنی V در انتهای '۵ خود با یک اگزون کوچک که یک **پپتید سیگنال**[1] یا **رهبر**[2] را کد می‌کند، آغاز می‌شود. پپتید رهبر، زنجیره سبک و سنگین را در شبکه اندوپلاسمی راهنمایی می‌کند. این پپتید قبل از تکمیل تشکیل ایمونوگلبولین از زنجیره‌های سبک و سنگین جدا می‌شود. در نتیجه اسیدآمینه‌هایی که توسط این توالی کد می‌شوند در مولکول‌های نهایی ایمونوگلبولین ظاهر نمی‌شوند.

خانواده چند ژنی زنجیره لامبدا (λ)

اولین مدرک دال بر این که منطقه متغیر زنجیره سبک که در حقیقت توسط دو قطعه ژنی کد می‌شوند، زمانی آشکار شد که تونگاوا، DNA رده زایا را که کد کننده ناحیه متغیر زنجیره سبک لامبدای موش بود را کلون کرد و توالی کامل نوکلئوتیدهای آن را تعیین کرد. با مقایسه توالی نوکلئوتیدی با توالی اسیدآمینه‌ای منطقه متغیر زنجیره لامبدا، نتیجه‌ای غیر قابل انتظار مشاهده شد. اگر چه ۹۷ اسیدآمینه اول ناحیه متغیر زنجیره λ با توالی کدون نوکلئوتیدی مطابقت داشتند، در ۱۳ اسیدآمینه انتهای کربوکسیل ناحیه متغیر چنین تطابقی دیده نمی‌شد. این مطلب مشخص می‌ساخت که بیشتر جفت‌بازها خارج شده بودند و یک منطقه ۳۹ جفت بازی به نام بخش اتصال یا J، بقیه ۱۳ اسیدآمینه منطقه متغیر زنجیره λ را کد می‌کنند. در نتیجه یک ژن عملکردی ناحیه λ شامل دو توالی کد کننده است- یک

1- signal peptide
2- Leader

www.bbooks.ir

بخش V در سمت '۵ و یک بخش J در سمت '۳ – که توسط یک توالی DNA غیر کد کننده از هم جدا می‌باشند.

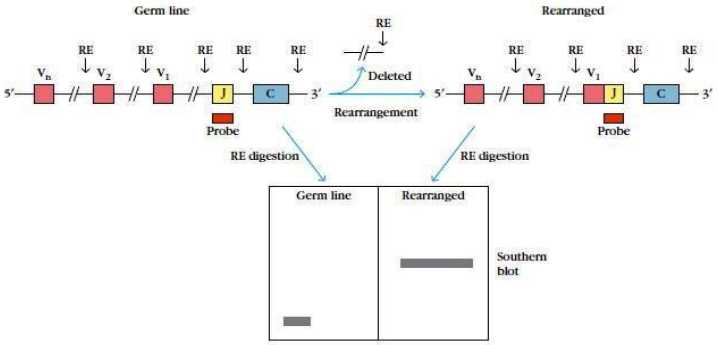
خانواده چند ژنی λ در دره زایای موش حاوی ۲ قطعه ژنی Vλ ، ۳ قطعه ژنی دارای عملکرد Jλ و دو قطعه ژن Cλ می‌باشد (شکل ۳a-۵). علاوه بر نسخه‌های عملکردی این ژن‌ها، برخی اشکال کاذب می‌باشند. آنها ژن‌های ناقصی هستند که قادر به کد کردن پروتئین نمی‌باشند؛ چنین ژن‌هایی با حرف یونای سای (ψ) نشان داده می‌شوند. به شکل جالبی ، $C\lambda_4$ که مکمل ناحیه ثابت $J\lambda_4$ می‌باشد یک ژن کاملاً عملکردی است. قطعه Vλ و سه قطعه ژنی Jλ ، ناحیه متغیر زنجیره سبک را کد می‌کنند و هر یک از سه قطعه عملکردی ژن Cλ ناحیه ثابت یکی از سه زیرگونه λرا کد می‌کنند (λ_1، λ_2 و λ_3). در انسان، لوکوسλ پیچیدگی بیشتری دارد. به طوری که این لوکوس حاوی ۳۰ قطعه عملکردی ژن Vλ، ۴ قطعه ژنی Jλ و ۷ قطعه Cλ که فقط ۴ عدد از آنها عملکردی هستند، می‌باشد. علاوه بر بخش‌های عملکردی، مجموعه ژنی λ در انسان، حاوی چندین ژن کاذب Vλ و Jλ نیز می‌باشد.

خانواده چند ژنی زنجیره کاپا (κ)

این خانواده در موش تقریباً شامل ۷۵ قطعه ژنی Vκ است که هر کدام در بالا دست همراه یک توالی رهبر می‌باشند (در انتهای '۵). این خانواده همچنین دارای ۵ قطعه ژنی Jκ (یکی از آنها ژن کاذب و غیر عملکردی است) و یک قطعه ژن Cλ نیز می‌باشد (شکل ۳b-۵). همانند خانواده چند ژنی λ، قطعات Jκ و Vκ ، ناحیه متغیر زنجیره سبک کاپا را کد می‌کنند و ژن Cκ ناحیه ثابت را کد می‌کند. از آنجایی که تنها یک قطعه Cκ وجود دارد، هیچ زیر نوعی از زنجیره‌های κ وجود ندارد. مقایسه بخش‌های a و b شکل ۳-۵ نشانگر این می‌باشد که آرایش قطعات ژنی در خانواده κ با λ تفاوت دارد. خانواده چند ژنی κ در انسان

www.bbooks.ir

که یک سازمان‌یابی مشابه موش دارد، تقریباً دارای ۴۰ قطعه ژنی Vκ و ۵ قطعه Jκ و یک قطعه Cκ می‌باشد.



شکل ۲-۵: اساس آزمایشگاهی جهت تشخیص بازآرایی در یک جایگاه Ig. تعداد و اندازه قطعات محدود شونده در نتیجه مجاورت DNA با آنزیم محدود کننده (RE) بوده که توسط توالی DNA تعیین می شود. هضم یک DNA بازآرایی شده با یک آنزیم محدود کننده موجب تشکیل الگویی از قطعات می شود که با الگوی حاصل از قطعات بازآرایی نشده متفاوت می باشد. این قطعات توسط روش لکه گذاری ساترن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته اند. در این مثال یک پروب که دارای یک قطعه ژن J می باشد، جهت تشخیص قطعات هضم شده با RE استفاده می شود که شامل تمام یا بخشی از این قطعه می باشد. طبق شکل، بازآرایی در نتیجه حذف یک قطعه DNA رده زایا و از دست رفتن یک جایگاه محدود شونده می باشد.

خانواده چند ژنی زنجیره سنگین

سازماندهی ژن‌های زنجیره سنگین ایمونوگلبولین مشابه ولی پیچیده‌تر از زنجیره‌های κ و λ می‌باشد (شکل ۳c-۵). یک قطعه ژنی اضافی، قسمتی از ناحیه متغیر زنجیره سنگین را کد می‌کند. وجود این قطعه، اولین بار توسط هود[1] و همکارانش نشان داده شد که توالی اسیدآمینه‌های ناحیه متغیر زنجیره سنگین را با توالی‌های نوکلئوتیدی V_H و J_H مقایسه کردند.

1- Leroy Hood

www.bbooks.ir

قطعه ژنی V_H اسیدآمینه‌های ۱ تا ۹۴ را کد می‌کند و قطعه ژنی J_H اسید آمینه‌های ۹۸ تا ۱۱۳ را کد می‌کند هر چند که هیچ‌کدام از این قطعات، اطلاعات لازم برای کد کردن اسیدآمینه‌های ۹۵ تا ۹۷ را حمل نمی‌کنند. وقتی که توالی نوکلئوتیدی DNA بازآرایی شده در میلوما با توالی DNA رده زایا مقایسه شود، یک توالی نوکلئوتیدی اضافی میان V_Hو J_H دیده می‌شود که مربوط به اسیدآمینه‌های موقعیت ۹۵ تا ۹۷ می‌باشد.

هود از این نتایج، نتیجه‌گیری کرد که یک قطعه سومی در رده زایا وجود دارد که باید به بخش‌های ژنی V_H و J_H اتصال یابد، تا کل ناحیه متغیر زنجیره سنگین را کد کند. این قطعه ژنی که اسیدآمینه‌های ناحیه مکمل تعیین کننده ۳[1] (CDR3) را کد می‌کند، به دلیل شرکت در ایجاد تنوع آنتی‌بادی با حرف D نمایش می‌دهند. تونگاوا و همکارانش، محل قطعات ژنی D را که در DNA رده زایای موش قرار دارند را با یک پروب cDNA مکمل علیه ناحیه D مشخص کردند و نشان دادند که قطعات D بین قطعات V_H و J_H قرار دارند.

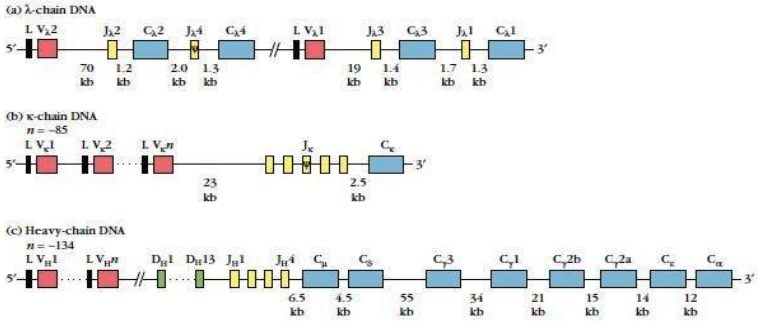
تعیین توالی مستقیم خانواده چند ژنی زنجیره سنگین که روی کروموزوم ۱۴ انسان قرار دارد، مشخص کرده که DNA شامل ۳۹ قطعه ژنی V_H است که در بالا دست یک‌سری ۲۳تایی از قطعات عملکردی ژن D قرار دارند. همانند زنجیره‌های سبک، هر قطعه ژنی V_H، با فاصله کمی پشت یک توالی رهبر قرار می‌گیرد. پایین دست قطعات ژنی D_H، ۶ قطعه ژنی عملکردی J_H وجود دارد که در ادامه به یک سری C_H ختم می‌گردد. هر قطعه C_H یک ایزوتایپ زنجیره سنگین Ig را کد می‌کند. قطعات C_H شامل اگزون‌ها و اینترون‌ها می‌باشد. هر اگزون یک دومن مجزا از ناحیه ثابت زنجیره سنگین را کد می‌کند. یک سازماندهی ژنی مشابه در مورد ژن‌های زنجیره سنگین موش نیز مشاهده می‌شود.

حفظ اعمال مؤثر بیولوژیک مولکول آنتی‌بادی، توسط تعداد محدودی از ژن‌های ناحیه ثابت زنجیره سنگین صورت می‌گیرد. در انسان و موش، قطعات ژنی C_H به صورت متوالی و با ترتیب Cμ، Cδ، Cλ، Cε و Cα قرار دارند (شکل ۳c-۵). این ترتیب متوالی تصادفی

1- Complementarity Determining Region3

www.bbooks.ir

نمی‌باشد؛ معمولاً مربوط به توالی بیان کلاس‌های مختلف Ig در جریان تکامل سلول‌های B است. برای مثال در اثر اولین مواجهه با آنتی‌ژن، پاسخ اولیه یک سلول B، سنتز آنتی‌بادی از کلاس IgM می‌باشد.



شکل مروری ۳-۵: سازمان یابی قطعات ژنی رده زایای Ig در موش. (a) زنجیره سبک λ (b) زنجیره سبک κ (زنجیره های κ و λ توسط قطعات ژنی V، J و C کد می شوند) (c) زنجیره سنگین (توسط قطعات ژنی V، D، J و C کد می شوند)

- بازآرایی‌های ژنی ناحیه متغیر

در بخش‌های قبل نشان داده شد که ژن‌های عملکردی که زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلبولین‌ها را کد می‌کنند، توسط وقایع نوترکیبی در سطح DNA شکل می‌گیرند. این وقایع، همراه با وقایع موازی آنها که بر روی پذیرنده‌های سلول T رخ می‌دهند، تنها بازآرایی‌های ژنی شناخته شده در مهره‌داران می‌باشند. بازآرایی‌های ژنی ناحیه متغیر به صورت یک روند متوالی و طی بلوغ سلول‌های B در مغز استخوان رخ می‌دهند. ابتدا ژن‌های ناحیه متغیر زنجیره‌های سنگین و سپس ژن‌های ناحیه متغیر زنجیره‌های سبک بازآرایی می‌شوند. در آخرین فرآیند،هر سلول B دارای یک توالی DNA ناحیه متغیر برای زنجیره سنگین و یکی هم برای زنجیره سبک خود خواهد بود.

فرآیند بازآرایی ژنی ناحیه V، منجر به تولید سلول‌های B بالغ و صلاحیت‌دار ایمنی خواهد شد که هر کدام از این سلول‌ها متعهد می‌شوند که آنتی‌بادی با یک جایگاه اتصال به

www.bbooks.ir

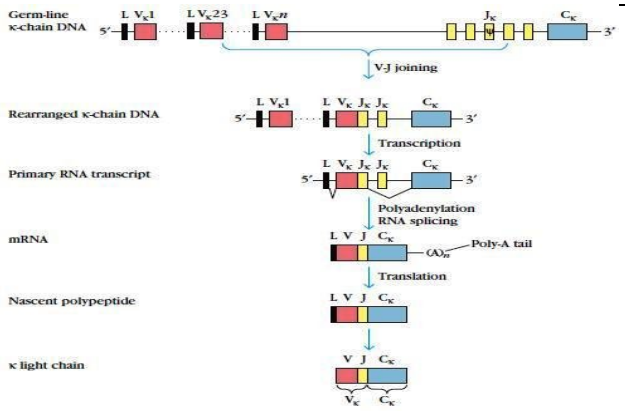
آنتی‌ژن، که توسط توالی خاصی که با ژن‌های بازآرایی شده ناحیه متغیر کد شده‌اند، را تولید کنند. همانطور که در ادامه توضیح داده خواهد شد، در بازآرایی ژن‌های ناحیه ثابت زنجیره سنگین، فرآیندی به نام تغییر کلاس، موجب تولید تغییرات بیشتری در کلاس یا ایزوتایپ آنتی‌بادی‌ها می‌گردد ولی این تغییرات بر ویژگی آنتی‌ژنی محصول (آنتی‌بادی) اثر ندارند.

DNA زنجیره سبک مراحل بازآرایی V-J را طی می‌کند

تولید زنجیره‌هایی سبک κ و λ نیاز به بازآرایی قطعات ژنی Vو J ناحیه متغیر دارد. در انسان هر ژن Vλ عمکردی، می‌تواند با هر کدام از ۴ ترکیب Jλ-Cλ ترکیب شود. در موش، مراحل کمی پیچیده‌تر است. بازآرایی DNA می‌تواند قطعه ژنی $V\lambda_1$ را یا با قطعه ژنی $V\lambda_1$ یا $V\lambda_3$ متصل کند و قطعه $V\lambda_2$ می‌تواند به $V\lambda_2$ اتصال یابد. در DNA زنجیره سبک κ انسان یا موش، هر کدام از قطعات ژنی Vκ می‌توانند با هر کدام از قطعات عملکردی ژن Jκ متصل شوند.

ژن‌های بازآرایی شده κ و λ از سمت '۵ به '۳ به ترتیب زیر می‌باشند: یک اگزون کوتاه رهبر '۵(L) ، توالی غیر کد کننده (اینترون)، یک قطعه اتصال یافته V-J، اینترون دوم و توالی کد کننده ناحیه ثابت. در ناحیه بالا دست هر قطعه ژنی رهبر، یک توالی پیش‌برنده یا پروموتر قرار دارد. توالی بازآرایی شده زنجیره سبک، توسط آنزیم RNA پلیمراز سمت اگزون L تا قطعه C رونویسی می‌شود تا به سیگنال پایان برسد و در نتیجه یک رونوشت اولیه RNA ایجاد می‌شود (شکل ۴-۵).

www.bbooks.ir



شکل ۴-۵: بازآرایی ژن زنجیره سبک κ و وقایع پردازش RNA مستلزم تولید یک پروتئین زنجیره سبک κ می باشد. در این مثال، بازآرایی موجب اتصال $J_{\kappa}4$ و $V_{\kappa}23$ می شود.

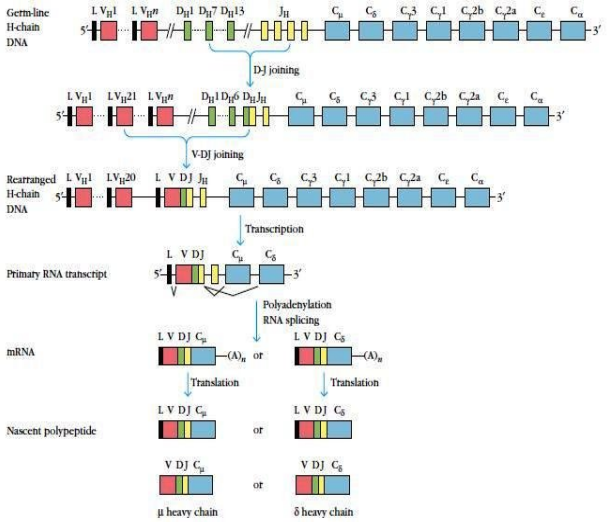
در رونوشت اولیه، اینترون‌ها توسط آنزیم‌های پردازش کننده RNA حذف شده و mRNA حاصل از هسته خارج می‌شود. mRNA زنجیره سبک به ریبوزوم‌ها چسبیده و به پروتئین زنجیره سبک ترجمه می‌شود. توالی رهبر موجود در انتهای آمینی، موجب هدایت زنجیره پلی‌پپتیدی در حال رشد در لومن شکبه اندوپلاسمی خشن گردیده و سپس تجزیه می‌شود. در نتیجه، این توالی درمحصول نهایی یا پروتئین زنجیره سبک حضور ندارد.

DNA زنجیره سنگین دچار بازآرایی V-D-Jمی‌شود

تولید زنجیره سنگین Ig، به دو فرآیند بازآرایی مجزا در ناحیه متغیر نیاز دارد. همانطور که در شکل ۵-۵ نشان داده شده، ابتدا یک قطعه D_H به J_H اتصال می‌یابد. قطعه D_H-J_H حاصل به قطعه V_H اتصال یافته و واحد V_H-D_H-J_H حاصل می‌شود که کل ناحیه متغیر زنجیره سنگین را کد می‌کند. در DNA زنجیره سنگین، بازآرایی ناحیه متغیر، منجر به شکل‌گیری ژنی می‌گردد که از سمت '۵ خود حاوی توالی‌های زیر می‌باشد. یک اگزون کوتاه رهبر (L)، یک اینترون، یک قطعه VDJ، اینترون دوم، یک سری از قطعات ژنی C. همانند

www.bbooks.ir

ژن‌های زنجیره سبک، با فاصله کمی از توالی رهبر هر زنجیره سنگین یک توالی پروموتر بـه چشم می‌خورد.



شکل ۵-۵: بازآرایی ژن زنجیره سنگین و وقایع پردازش RNA مستلزم تولید یک پروتئین کامل زنجیره سنگین μ یا δ می باشد. دو نوع اتصال DNA جهت تولید یک ژن کارآمد زنجیره سنگین نیاز می باشند. بیان ژن های عملکردی زنجیره سنگین علیرغم مشابهت عمومی آن با بیان ژن های زنجیره سبک، مستلزم پردازش RNA می باشد که موجب تولید چندین محصول شامل زنجیره های سنگین μ و δ می باشد. هر یک از ژن‌های C با یک توالی کدکننده خاص مشخص شده است که هر یک به صورت مجموعه ای از اگزون ها و اینترون ها سازمان یافته است.

با اتمام بازآرایی ژن زنجیره سنگین، RNA پلی مراز می‌تواند به پروموتر پیوسته و کل ژن را رونویسی کند که شامل اینترون‌ها نیز می‌شود. در ابتدا هـم قطعـات ژنـی Cμ و هـم Cδ رونویسی می‌گردند. پلی‌آدنیلاسیون تمایزی و پیرایش RNA، اینترون‌ها را حذف و mRNA اولیه را پردازش می‌کند تا یک mRNA ایجاد شود که یا Cμ و یا Cδ داشته باشد. ایـن دو mRNA به پروتئین ترجمه شـده و پپتیـد رهبـر موجـود در پلـی‌پپتیـد خـام جـدا شـده و زنجیره‌های نهایی μ و δ تولید می‌شوند. تولید دو mRNA زنجیره سنگین متفاوت، بـه یـک

www.bbooks.ir

سلول B بالغ و صلاحیت دار ایمنی اجازه می‌دهد که هم IgM و هم IgD را که دارای ویژگی‌های آنتی‌ژنی یکسان می‌باشند، بر سطح خود بیان کند.

- مکانیسم بازآرایی DNA ناحیه متغیر

اکنون که نتایج بازآرایی ژنی ناحیه متغیر را با هم مطالعه کردیم، بیایید به طور جزء به جزء به فرآیندی که در طی بلوغ سلول‌های B رخ می‌دهد نگاهی داشته باشیم.

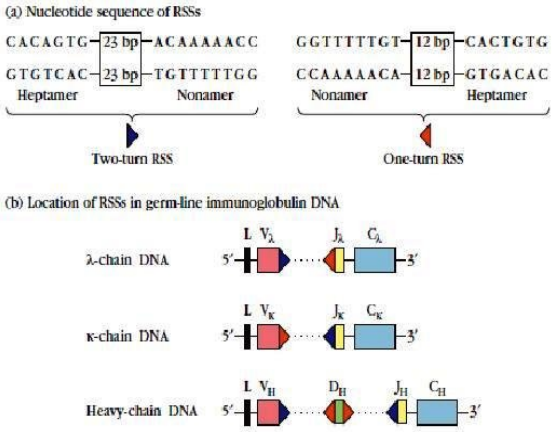
- توالی‌های پیام‌رسان نوترکیبی موجب هدایت نوترکیبی می‌گردند

کشف دو توالی حفاظت شده کاملاً مرتبط با هم در DNA رده زایا و در ناحیه متغیر، راه را برای درک کامل مکانیسم‌های بازآرایی ژن‌ها هموار کرد. مطالعات تعیین توالی DNA حضور **توالی‌های پیام‌رسان نوترکیبی**[1](RSS) را آشکار کرد که در اطراف هر کدام از قطعات ژنی D، V و J حضور داشتند. یک RSS در سر '۳ هر کدام از قطعات ژنی V، '۵ هر کدام از قطعات ژنی J و دو سمت هر قطعه D قرار دارد. این توالی‌ها به عنوان پیام‌هایی برای فرآیند نوترکیبی که ژن‌ها را بازآرایی می‌کند، می‌باشند. RSS شامل یک توالی پالیندرومی حفاظت شده هفت نوکلئوتیدی و یک توالی نه نوکلئوتیدی غنی از AT بوده که توسط یک توالی میانی متشکل از ۲۳-۱۲ جفت باز از یکدیگر جدا می‌شوند (شکل ۶a-۵). این توالی‌های ۱۲ تا ۲۳ جفت بازی به ترتیب با ۱ یا ۲ دور مارپیچ DNA ارتباط داشته و به همین دلیل به نام توالی‌های پیام‌رسان نوترکیبی یک طرفه و دو طرفه نامیده می‌شوند. توالی پیام‌رسان Vκ یک جدا کننده یک طرفه و توالی پیام‌رسان Jκ یک جداکننده دو طرفه دارد. در DNA زنجیره سبک λ ، بر عکس می‌باشد، توالی پیام‌رسان Vλ جداکننده دو طرفه و Jλ جداکننده یک طرفه دارد. در DNA زنجیره سنگین، قطعات ژنی V_Hو J_H جدا

1- Recombination Signal Sequences

www.bbooks.ir

کننده‌های دو طرفه دارند و در هر طرف قطعه D_H، جداکننده‌ها یک طرفه هستند (شکل ۶b-۵).



شکل ۶-۵: دو توالی حفاظت شده در DNA زنجیره سبک و سنگین به عنوان توالی های پیام نوترکیبی (RSSs) عمل می کنند. (a) هر دو توالی پیام شامل یک هپتامر پالیندرومی حفاظت شده و نونامر غنی از AT حفاظت شده می باشند. این توالی ها توسط توالی های بینابینی حفاظت نشده ۱۲ یا ۲۳ جفت بازی از یکدیگر جدا می شوند. (b) دو نوع RSS با موقعیت مشخص در DNA زنجیره λ، κ و DNA رده زایای زنجیره سنگین وجود دارد. در طی بازآرایی DNA قطعات ژنی مجاور RSS یک پیچ می تواند تنها به قطعات مجاور RSS دو پیچ متصل شود.

توالی‌های پیام‌رسانی که جداکننده یک طرفه دارند فقط به توالی‌هایی که جداکننده دو طرفه دارند متصل می‌شوند (قانون اتصال دو طرفه – یک طرفه). این قانون تأکید می‌کند که یک قطعه V_Lفقط به J_L متصل شده و به V_L دیگر اتصال نمی‌یابد و همچنین می گوید که قطعات V_H، D_H و J_H در ترتیب نامناسب به هم وصل شده و این که قطعات همسان به هم متصل نمی‌شوند.

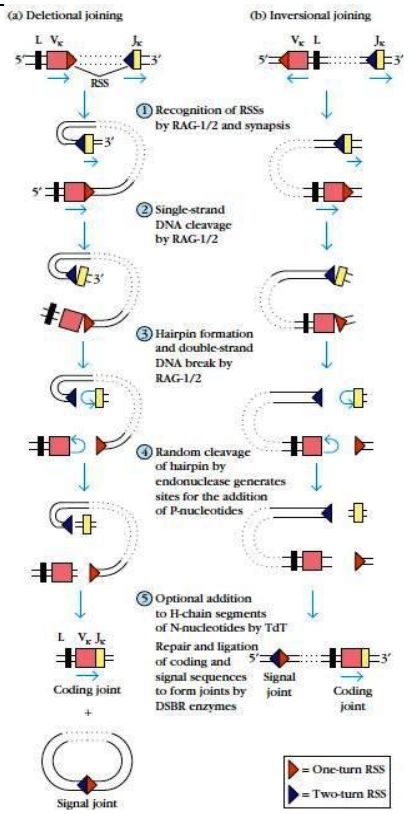
www.bbooks.ir

- قطعات ژنی توسط آنزیم‌های ریکامبنیاز به هم اتصال می‌یابند

نوترکیبی V-(D)-J که در اتصالات بین RSS با توالی‌های کد کننده انجام می‌شود، توسط مجموعه‌ای به نام **ریکامبنیاز V(D)J** [1] صورت می‌گیرد. شناسایی این آنزیم‌ها در اواخر دهه ۱۹۸۰ آغاز شد. در سال ۱۹۹۰ شاتز[2]، اوتینگر[3] و بالتیمور[4] برای اولین بار **دوژن فعال کننده نوترکیبی**[5] به نام‌های **RAG -1** و **RAG -2** را کشف کردند که پروتئین‌های کد شده توسط آنها با یکدیگر همکاری داشتند و برای اتصال V-D-J ضروری بودند. پروتئین‌های RAG-1، RAG-2 تنها محصولات ژنی اختصاصی لنفوئید هستند که در بازآرایی VDJ نقش دارند. نوترکیبی قطعات ژنی ناحیه متغیر شامل مراحل زیر است که توسط مجموعه آنزیم‌های ریکامبنیاز کاتالیز می‌شوند (شکل ۷-۵):

1-V(D)J Recombinase
2- David Schatz
3 - Marjorie Oettiger
4 - David Baltimor
5 - Recombination activating genes

www.bbooks.ir



شکل ۷-۵: یک مدل شماتیک از روند عمومی نوترکیبی قطعات ژن ایمونوگلبولین با Vκ و Jκ. (a) اتصال حذفی زمانی رخ می دهد که قطعات ژنی متصل شده و جهت نسخه برداری آنها مشابه باشد. این روند موجب تشکیل دو محصول می شود. یک واحد V_J بازآرایی شده که شامل اتصال کدکننده بوده و یک محصول حلقوی که شامل توالی های پیام نوترکیبی (RSS)، اتصال نشانه و DNA بینابینی می باشد. (b) اتصال معکوس زمانی اتفاق می افتد که قطعات ژنی جهت نسخه برداری مخالف با یکدیگر دارند. در این مورد RSS، اتصال نشانه و DNA بینابینی حاصل شده و جهت یکی از قطعات اتصالی معکوس می شود.

۱- شناسایی توالی‌های پیام رسان نوترکیبی (RSS) توسط ریکامبنیازها، که منجر به شکل‌گیری سیناپس‌هایی می‌گردد که در آن، دو توالی پیام‌رسان و توالی‌های کد کننده (قطعات ژنی) کنار یکدیگر قرار می‌گیرند.

www.bbooks.ir

۲- شکستن یک رشته DNA توسط RAG-1 و RAG-2 در نـواحی اتصـال تـوالی‌هـای پیام‌رسان و کد کننده.

۳- واکنشی که توسط RAG-1 و RAG-2 کاتالیز شده و طی آن گروه هیدروکسیل آزاد '۳ در رشته بریده شده، به پیوند فسـفودی اسـتری کـه رشـته مکمـل را بـه تـوالی پیام‌رسان متصل کرده، حمله کرده ویک ساختار سنجاق‌سری در انتهای بریـده شـده توالی کدکننده ایجاد می‌کند که در سمت '۵ فسفریله شده و سـاختار دو رشـته‌ای را در توالی پیام‌رسان می‌شکند.

۴- بریدن سنجاق‌سر توسط آنزیم اندونوکلئاز تک رشته بعداز چنـد نوکلئوتیـد از تـوالی کدکننده به منظور تولید مکان‌هایی برای افزودن **نوکلئوتیدهای ناحیه P**[1].

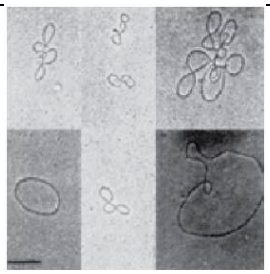
۵- افزودن حداکثر ۱۵ نوکلئوتید به نام **نوکلئوتیدهای منطقه N** [2] در انتهای بریده شده توالی‌های J، D و V زنجیره سنگین توسط آنـزیم داکسـی نوکلئوتیـدیل **ترانسـفر از انتهای** [3].

۶- ترمیم و اتصال توالی‌های کدکننده و اتصال توالی‌های پیـام‌رسـان توسـط آنـزیم‌هـای ترمیم کننده شکستگی مارپیچ دو رشته‌ای (DSBR).

نوترکیبی منجر به شکل‌گیری اتصالات کدکننده در فواصل بیان توالی‌های کدکننده و یک اتصال پیام‌رسان بین RSSها می‌گردد. جهت نسخه‌برداری قطعات ژن کـه بـه هـم متصـل می‌شوند، سرانجام DNA حدفاصل و اتصال پیام‌رسان را تعیـین مـی‌کنـد. وقتـی دو ژن در جهت همسان رونویسی قرار داشته باشند، اتصـال آنهـا موجـب حـذف DNA حدفاصـل و اتصال پیام‌رسان به صورت محصول حلقوی می‌گردد (شکل ۸-۵).

1- P-region nucleotides
2- N-region nucleotides
3- terminal deoxynucleotidyl transferase (tdt)

www.bbooks.ir



شکل ۸-۵: DNA حلقوی جدا شده از تیموسیت ها که TCR را کد می کند در فرآیندی مشابه ژن های Ig دچار بازآرایی می شوند. جداسازی این محصول حلقوی شاهدی بر سازوکار اتصال حذفی می باشد.

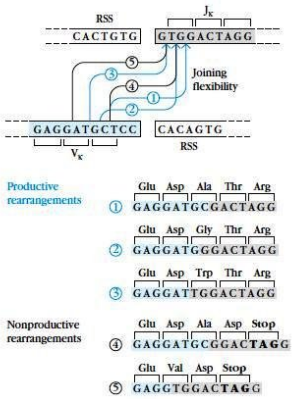
به ندرت دو قطعه ژنی در جهت متضاد با یکدیگر قرار دارند. در این حالت، اتصال آنها با معکوس شدن DNA همراه است که منجر به حفظ اتصال کدکننده و اتصال پیام‌رسان (DNA حدواسط) بر روی کروموزوم می‌گردد. در لوکوس ژن کاپا در انسان تقریباً نصف قطعات ژنی Vκ در جهت مخالف با Jκ قرار داشته و اتصال آنها از طریق معکوس شدن صورت می‌پذیرد.

- بازآرایی‌های ژن Ig ممکن است منجر به تولید محصول نگردد

یکی از ویژگی‌های مهم نوترکیبی قطعات ژنی، تنوع اتصالات کدکننده بوده که بین هر دو قطعه ژنی ایجاد می‌شوند. اگر چه شکستن DNA دو رشته‌ای که موجب آغاز بازآرایی V(D)J می‌شود، دقیقاً در ناحیه اتصال توالی‌های کدکننده و توالی‌های پیام‌رسان صورت می‌گیرد، اتصال بعدی توالی‌های اتصالی دقیق نمی‌باشد. توالی‌های کد کننده V-(D)-J و V-J توسط مکانیسم‌های متعددی ایجاد می‌شود: تنوع در برش ساختار سنجاق‌سر برای افزودن نوکلئوتیدهای P، تنوع در چیدمان توالی‌های کدکننده، تنوع در افزودن نوکلئوتیدهای N و انعطاف‌پذیری در اتصال توالی‌های کدکننده. معرفی تصادفی بودن فرآیند اتصال در توضیح تنوع تولید آنتی‌بادی و جایگاه‌های بسیار متغیر اتصال به آنتی‌ژن، کمک کننده می‌باشد (این پدیده با جزئیات بیشتر در فصل ایجاد تنوع آنتی‌بادی شرح داده خواهد شد).

www.bbooks.ir

نتیجه دیگر اتصالات غیر دقیق این است که ممکن است قطعات ژنی خارج از چارچوب به هم متصل شوند و در نتیجه قالب خواندن سه تایی برای ترجمه حفظ نشود. چنین بازآرایی بدون محصولی ممکن است دارای کدون‌های پایانی زیادی شوند که با اختلال در ترجمه همراه می‌باشد (شکل ۹-۵).



شکل ۹-۵: انعطاف پذیری اتصالات در قطعات ژنی Ig که در مورد V_κ و V_J نشان داده شده است. اتصال قالب ۱، ۲ و ۳ موجب تشکیل یک قطعه بازآرایی شده می شود که می تواند به پروتئین ترجمه شود. اتصال خارج از قالب ۴ و ۵ منجر به تشکیل قطعات بازآرایی شده ناکارآمد شده که حاوی کدون های پایان بوده و به پروتئین ترجمه نمی شود.

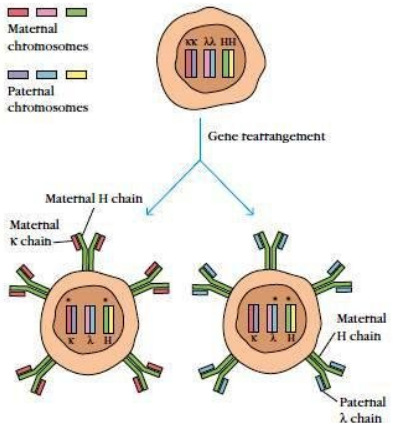
وقتی قطعات ژنی در چارچوب خود به هم اتصال می‌یابند، قالب خواندن نیز ثابت می‌ماند که واحد VJ و V-(D)-J منجر به تولید یک آنتی‌بادی کامل می‌گردد.

اگر یک آلل طوری بازآرایی شود که فاقد محصول باشد، سلول B ممکن است هنوز قادر به بازآرایی آلل دیگر باشد تا به تولید محصول بیانجامد. اگر یک ژن زنجیره سبک و زنجیره سنگین بازآرایی شده تولید نشود. سلول B دچار آپوپتوز شده و می‌میرد. تخمین زده می‌شود که تنها یکی از سه اتصال V_L-J_L و فقط یکی از سه اتصال V_H-D_H-J_H محصول تولید می‌کنند. در نتیجه کمتر از $\frac{1}{9}$(۱۱٪) سلول‌های اولیه Pre-B در مغز استخوان به بلوغ می‌رسند و مغز استخوان را به صورت سلول B صلاحیت دار ایمنی ترک می‌کنند.

www.bbooks.ir

- حذف آللی تأمین کننده ویژگی آنتی‌ژنی می‌باشد

سلول‌های B همانند سایر سلول‌های پیکره‌ای دیپلوئید بوده و شامل کروموزوم‌های پدری و مادری می‌باشند. هر چند که ژن‌های بازآرایی شده زنجیره سنگین را تنها از یک کروموزوم و ژن‌های بازآرایی شده زنجیره سبک را نیز تنها از یک کروموزوم بیان می‌کنند. فرآیندی که توسط آن، این عمل صورت می‌گیرد **حذف آللی**[1] بوده و تضمین کننده این است که سلول‌های B عملکردی هیچ‌گاه دارای بیشتر از یک واحد V_H-D_H-J_H و یک V_L-J_L نمی‌باشند (شکل ۱۰-۵).



شکل ۱۰-۵: به علت حذف آللی، تنها زنجیره های سبک و سنگین Ig از یک کروموزوم والدی بیان می شود. این فرآیند موجب می شود تا سلول های B یک ویژگی آنتی ژنی داشته باشند. آلل انتخابی برای بازآرایی، به صورت تصادفی انتخاب می شود.

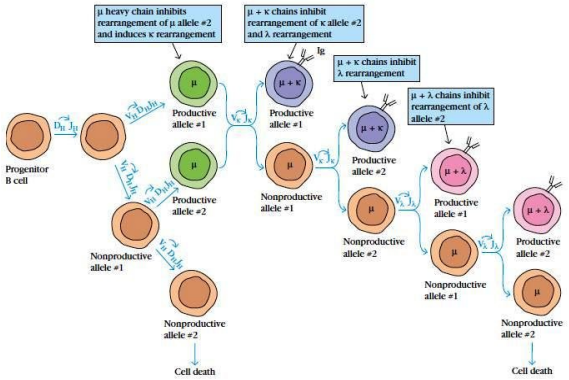
البته این امر برای اختصاصیت آنتی‌ژنی سلول‌های B ضروری است زیرا بیان هر دو نوع آلل موجب چند ویژگی‌شدن سلول B می‌گردد. پدیده حذف یا انحصار آللی پیشنهاد می‌کند که وقتی یک بازآرایی V_H-D_H-J_H محصول‌دار و یک بازآرایی V_L-J_L محصول‌دار رخ

1- Allelic exclusion

www.bbooks.ir

می‌دهد، دستگاه نوترکیبی خاموش شده و در نتیجه ژن‌هـای زنجیـره سـبک و سـنگین روی کروموزوم‌های همولوگ بیان نمی‌شوند.

یانکوپلوس[1] و آلت[2] مدلی برای توضیح انحصار آللی ارائه کردند (شکل ۱۱-۵).



شکل ۱۱-۵: مدل حذف آللی. در ابتدا بازآرایی ژن های زنجیره سنگین صورت می گیرد و یک بازآرایی کارآمد ژن زنجیره سنگین رخ می دهد. محصول پروتئینی μ مانع از بازآرایی سایر آلل های زنجیره سنگین شده و موجب شروع بازآرایی ژن های زنجیره سبک می شود.

آنها پیشنهاد کردند، وقتی بازآرایی منجر به تولید محصول گردد، پروتئین کد شده توسـط آن بیان گردیده و حضور پروتئین به عنوان یک پیام برای جلـوگیری از بـازآرایی ژن عمـل می‌کند. بر طبق مدل آنها، حضور پیام‌های زنجیره سنگین μ مجب خاموش شـدن بـازآرایی در آلل دیگر زنجیره سنگین در سلول‌های B در حال بلوغ و روشن‌شدن بازآرایی ژن زنجیره سبک κ می‌گردد. در صورتی که بازآرایی منجر بـه محصـول در ژن زنجیـره سـبک κ رخ می‌دهد، زنجیره κ تولید شده و همراه با زنجیره سنگین μ یـک آنتـی‌بـادی کامـل را شـکل می‌دهد. حضور این آنتی‌بادی، بازآرایی ژن دیگـر زنجیـره سـبک را خـاموش مـی‌کنـد. در صورتی که بازآرایی ژن‌های κ در هر دو آلل فاقد محصول باشند، بازآرایی ژن‌های زنجیـره

1- G.D.Yancopoulos
2- F.W.Alt

www.bbooks.ir

λ آغاز می‌شود. اگر هیچ کدام از آلل‌های λ نیز محصول نداشته باشند سلول‌های B بالغ نشده و در اثر آپوپتوز از بین می‌روند.

- ایجاد تنوع آنتی‌بادی

با کشف سازمان یابی ژن‌های ایمونوگلبولین، منشاء تنوع گسترده ناحیه متغیر نیز شروع به مشخص شدن کرد. نظریه رده زایا که قبلاً بیان شد، در این خصوص بحث می‌کند که کلی ذخیره ناحیه متغیر در رده زایای ارگانیسم کد شده و از طریق سلول‌های زایا (تخمک و اسپرم) از والدین به فرزندان منتقل می‌شود. نظریه تنوع پیکره‌ای بیان می‌کرد که رده زایا حاوی تعداد محدودی از ژن‌های ناحیه متغیر است که در سلول‌های پیکره‌ای، طی تکامل سیستم ایمنی، وقایع نوترکیبی و جهش دارای تنوع می‌گردند. با کلون کردن و تعیین توالی ژن‌های Ig، هر دو نظریه فوق تا حدی توجیه گردیدند. تاکنون ۷ روش برای ایجاد تنوع آنتی‌بادی در انسان و موش شناسایی شده‌اند:

- قطعات چندگانه ژنی در رده زایا
- اتصال ترکیبی V-(D)-J
- انعطاف پذیری اتصال
- افزودن نوکلئوتیدهای ناحیه P
- افزودن نوکلئوتیدهای ناحیه N
- هایپرموتاسیون سوماتیک
- همراهی ترکیبی زنجیره‌های سبک و سنگین

اگر چه میزان دقیق مداخله هر کدام از این عوامل در تنوع کلی آنتی‌بادی مشخص نمی‌باشد ولی آنها به طور چشم‌گیری در تعداد بی‌شماری از آنتی‌بادی‌هایی که سیستم ایمنی پستانداران قادر به تولید آنها می‌باشد، شرکت دارند.

www.bbooks.ir

- در رده زایا قطعات D،V و J متعددی وجود دارد

کشف قطعات ژنی V، D و J عملکدری در DNA انسان مشخص کـرده کـه تعـداد ۴۸ قطعه V_H، ۲۳ قطعه D، ۶ قطعه JH و ۴۱ قطعه Vκ، ۳۴ قطعـه Vλ و ۵ قطعـه Jλ وجـود دارد. علاوه بر این قطعات عملکردی، در برخی مطالعات میدانی که به منظور تعیـین تـوالی DNA صورت گرفتند، در لوکوس ایمونوگلبولین، تعدادی ژن کاذب نیز مشاهده شده‌اند. بـا وجودی که تعداد این قطعات ژنی در موش نسـبت بـه انسـان بـا دقـت کمتـری محاسـبه شده‌اند. مشخص شده که تعداد قطعات ژنی زنجیره سنگین ۱۳۴ قطعـه V_H، ۴ قطعـه J_H و ۱۳ قطعه D و در مورد قطعات Vκ، Jκ، Vλو Vλ به ترتیب ۸۵، ۴، ۳ و ۳ قطعه می‌باشـد. اگر چه تعداد ژن‌های رده زایای یافت شده در انسان یا موش کمتر از مقدار پیش‌بینی شـده توسط مدل رده زایا می‌باشند.

اتصال V-D-J و V-J تنوع ایجاد می‌کند

بازآرایی تصادفی قطعات ژنی رده زایا منجر به ایجاد تنوع در سلول‌های پیکره‌ای می‌گردد (جدول ۲-۵).

ترکیب هر یک از ۴۸ قطعه VH با هریـک از ۲۳ قطعـه DH و ۶ قطعـه JH در انسـان منجر به تنوع قابل تـوجهی (۶۶۲۴ = ۶×۲۳× ۴۸ حالـت ممکـن) در ژن زنجیـره سـنگین خواهد شد. به طور مشابه به اتصال تصادفی ۳۴ قطعه Vλ با ۵ قطعـه Jλ تـا ۱۷۰ ترکیـب ممکن را ایجاد خواهد کرد و این تعداد در مورد لوکوس κ، ۲۰۵ ترکیب مختلف مـی‌باشـد، توجه به این نکته ضروری است که این اعداد حداقل محاسبات برای پی‌بردن به تعداد تنوع می‌باشند که همراه با انعطاف‌پذیری اتصالی، افزودن نوکلئوتیدهای P و N که قـبلاً بـه آنهـا اشاره شد و به خصوص هایپرموتاسیون سوماتیک که در ادامه شرح داده خواهد شد، همـراه با یکدیگر در تنوع گسترده آنتی‌بادی دخالت دارند.

www.bbooks.ir

TABLE 5-2 Combinatorial antibody diversity in humans and mice

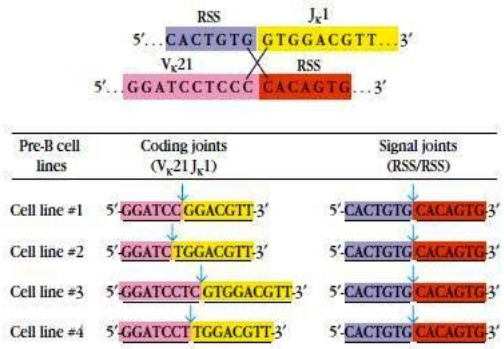
Multiple germ-line segments	Heavy chain	LIGHT CHAINS κ	LIGHT CHAINS λ
ESTIMATED NUMBER OF SEGMENTS IN HUMANS*			
V	48	41	34
D	23	0	0
J	6	5	5
Combinatorial V-D-J and V-J joining (possible number of combinations)	48 × 23 × 6 = 6624	41 × 5 = 205	34 × 5 = 170
Possible combinatorial associations of heavy and light chains†		6624 × (205 + 170) = 2.48 × 10^6	+
ESTIMATED NUMBER OF SEGMENTS IN MICE*			
V	134	85	2
D	13	0	0
J	4	4	3
Combinatorial V-D-J and V-J joining (possible number of combinations)	101 × 13 × 4 = 5252	85 × 4 = 340	2 × 3 = 6
Possible combinatorial associations of heavy and light chains†		5252 × (340 + 6) = 1.82 × 10^6	

*These numbers have been determined from studies of single subjects; slight differences may be seen among different individuals. In the cases of both human and mouse, only the functional gene segments have been listed. The genome contains additional segments that are incapable of rearrangement or contain stop codons or both.
†Because of the diversity contributed by junctional flexibility, P-region nucleotide addition, N-region nucleotide addition, and somatic mutation, the actual potential exceeds these estimates by several orders of magnitude.

- انعطاف‌پذیری اتصالی بر میزان تنوع می‌افزاید

تنوع ایجاد شده در اثر ترکیب‌های مختلف J, D, V توسط پدیده‌ای به نام **انعطاف‌پذیری اتصالی** بیان می‌شود. همانطور که قبلاً بیان شد، نوترکیبی شامل اتصال توالی‌های پیام‌رسان برای ایجاد یک اتصال پیام‌رسان و اتصال توالی‌های کدکننده برای ایجاد یک اتصال کد کننده می‌باشد (شکل ۷-۵). اگر چه توالی‌های پیام‌رسان همیشه با دقت به هم اتصال می‌یابند اما اتصال توالی‌های کد کننده دقیق نمی‌باشند. برای مثال در یک مطالعه، اتصال توالی‌های کد کننده Jκ1 و Vκ21 در چندین رده سلولی Pre-B مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مشخص شد که توالی‌های پیام‌رسان و کدکننده از نظر دقت اتصال با یکدیگر تفاوت داشتند (شکل ۱۲-۵).

www.bbooks.ir



شکل ۱۲-۵: شواهد آزمایشگاهی از انعطاف پذیری اتصالی در بازآرایی ژن Ig. توالی های نوکلئوتیدی کد کننده بین $V_{\kappa}21$ و $J_{\kappa}1$ و توالی های پیام متناظر با آنها در چهار رده سلول پیش ساز B تعیین شده است. ثبات و پایداری توالی در جایگاه های اتصال نشانه و تغییرپذیری توالی ها در اتصالات کدکننده نشان داده شده است.

همانطور که قبلاً عنوان شد، انعطاف‌پذیری اتصالی ممکن است به بازآرایی‌های بدون محصول منجر شود اما می‌تواند محصول نیز تولید کند که اسید آمنیه جایگزینی را رمز کند (شکل ۹-۵). در نتیجه تنوع آنتی‌بادی افزایش می‌یابد. تنوع آنتی‌بادی و اسید آمینه که در اتصالات کد کننده و در نتیجه انعطاف‌پذیری اتصال ایجاد می‌شود در سومین ناحیه مکمل تعیین کننده (CDR3) قرار می‌گیرند(جدول ۳-۵). از آنجایی که CDR3 معمولاً نقش مهمی در جایگاه اتصال به آنتی‌ژن مولکول آنتی‌بادی بازی می‌کند، تغییرات اسیدآمینه در این ناحیه که توسط انعطاف‌پذیری اتصالی حاصل می‌شود،در شکل‌گیری تنوع آنتی‌بادی از اهمیت بالایی برخوردار است.

- افزودن نوکلئوئیدهای P موجب تنوع در توالی‌های پالنیدرومی می‌شود

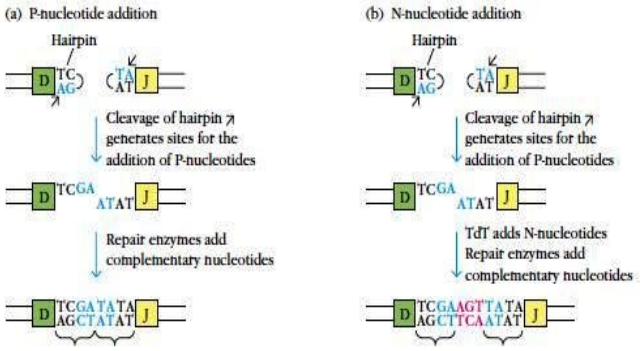
بعد از شکسته شدن تک رشته DNA در ناحیه اتصال قطعه ژنی ناحیه متغیر و توالی پیام‌رسان، نوکلئوتیدهای انتهای توالی کد کننده برمی‌گردند تا ساختار سنجاق‌سری تشکیل شود (شکل ۷-۵). این ساختار سنجاق‌سر، بعداً توسط یک اندونوکلئاز جدا می‌گردد. این

www.bbooks.ir

برش دوم ممکن است موجب باقی‌ماندن یک تک‌رشته کوتاه در انتهای توالی کدکننده گردد. افزودن نوکلئوتیدهای مکمل به این رشته توسط آنزیم‌های تعمیرکننده موجب شکل‌گیری یک توالی پالنیدرومی می‌گردد و به همین خاطر این عمل را **افزودن نوکلئوتیدهای P** می‌نامند (شکل ۱۳a-۵). تنوع در جایگاه بریده شدن ساختار سنجاق‌سر منجر به تنوع در توالی نواحی کدکننده می‌گردد.

- افزودن نوکلئوتیدهای N موجب تنوع چشمگیری می‌شود

اتصالات کد کننده ناحیه متغیر ژن بازآرایی شده زنجیره سنگین حاوی توالی‌های کوتاه اسیدآمینه‌ای هستند که توسط قطعات ژنی D،V و J کد نمی‌شوند. این اسیدآمینه‌ها توسط نوکلئوتیدهایی کد می‌شوند که طی فرآیند اتصال V به D-J یا D به J توسط آنزیم TdT به آنها اضافه می گردد (شکل ۱۳b-۵). TdT



شکل ۱۳-۵: اضافه شدن نوکلئوتید N و نوکلئوتید P در طی فرآیند الحاق. (a) در اکثر موارد، شکست حاصل از این توالی ها موجب ایجاد یک انتهای تک رشته ای می شود. در پی روند ترمیم، نوکلئوتید های مکمل تحت عنوان نوکلئوتید P اضافه شده تا این که توالی های پالیندرومی تولید شوند. در این مثال، ۴ جفت باز در اتصال کد کننده نشان داده شده است که در نتیجه اضافه شدن نوکلئوتید P می باشد. (b) در کنار این اضافه شدن نوکلئوتید P، اضافه شدن نوکلئوتید N تصادفی توسط TdT نیز ممکن است در پی اتصال توالی های کدکننده زنجیره سنگین رخ دهد.

www.bbooks.ir

قادر است تا ۱۵ نوکلئوتید را به اتصالات D_H-J_H و V_H-D_HJ_H اضافه کند. در نتیجه یک ناحیه متغیر زنجیره سنگین کامل توسط یک واحد $V_HND_HNJ_H$ کد می‌گرد. تنوع حاصل از افزودن نوکلئوتیدهای N در زنجیره سنگین تقریباً زیاد می‌باشد به دلیل این که نواحی N شامل توالی‌های کاملاً تصادفی بوده و بدلیل این که این تنوع در مفاصل کد کننده V-D-J رخ می‌دهد، نواحی CDR3 زنجیره سنگین را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

- هایپرموتاسیون سوماتیک موجب تنوع قطعات بازآرایی شده می‌گردد.

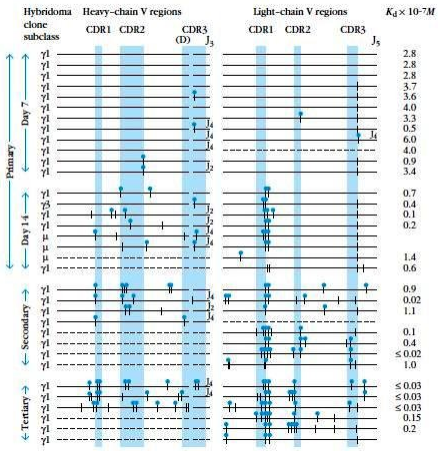
تاکنون تمامی تنوع‌های توضیح داده شده در مورد آنتی‌بادی مربوط به مکانیسم‌هایی بودند که طی شکل‌گیری مناطق متغیر اختصاصی و توسط بازآرایی ژن‌ها ایجاد می‌شدند. یک نوع دیگری از مکانیسم‌های ایجاد تنوع وجود دارد که در واحدهای بازآرایی شده ژن ناحیه متغیر ایجاد می‌شود و طی روندی به نام **هایپرموتاسیون سوماتیک**[1] شکل می‌گیرد. نتیجه عمل هایپرموتاسیون سوماتیک جایگزینی نوکلئوتیدهای موجود در واحدهای VJ یا VDJ با انواع جایگزین می‌باشد و در نتیجه ویژگی ایمونوگلبولین کد شده تغییر خواهد کرد.

در حالت طبیعی، هایپرموتاسیون سوماتیک تنها در مراکز زایا رخ می‌دهد (فصل ۱۱). این مراکز ساختارهایی هستند که طی یک هفته یا بیشتر پس از ایمونیزاسیون در اعضای لنفاوی ثانویه ایجاد می‌شوند و پاسخ‌های سلولB وابسته به T را تحریک می‌کنند. هدف هایپرموتاسیون سوماتیک، توالی DNA موجود در ناحیه متغیر بازآرایی شده می‌باشد که حدود ۱۵۰۰ نوکلئوتید داشته و کل قطعه VJ یا VDJ را در بر می‌گیرد. فراوانی رخ دادن هایپرموتاسیون سوماتیک در هر بار نزدیک $۱۰^{-۳}$ در هر جفت باز می‌باشد. این مقدار حداقل صدهزار برابر بیشتر از جهش‌های خودبه‌خودی در سایر ژن‌ها بوده و به همین دلیل لفظ هایپرموتاسیون برای آن به کار برده می‌شود. از آنجایی که طول ژن‌های نواحی متغیر

1- somatic hypermutation

www.bbooks.ir

زنجیره سبک و سنگین حدود ۶۰۰ جفت باز می‌باشد انتظار می‌رود که در هر دو تقسیم سلولی حداقل شاهد یک جهش در ژن‌های V_H و V_L کد کننده آنتی‌بادی باشیم.



شکل ۱۴-۵: شواهد تجربی از جهش سوماتیک در نواحی متغیر ژن های ایمونوگلبولین.

در هایپرموتاسیون سوماتیک به جای حذف و اضافه شدن نوکلئوتیدها بیشتر شاهد جایگزینی نوکلئوتیدی هستیم. عمل جایگزینی نوکلئوتیدها در هایپرموتاسیون سوماتیک به صورت تصادفی است ولی کاملاً تصادفی نمی‌باشد. توالی‌های نوکلئوتیدی مشخص و همچنین توالی‌های پالیندرومی بیشتر مستعد هایپرموتاسیون سوماتیک می‌باشند که نقاط داغ خوانده می‌شوند.

هایپرموتاسیون سوماتیک در قطعات VJو VDJ رخ می‌دهد ولی در سلول‌های B بالغ این پدیده در توالی‌های CDR مناطق V_H و V_Lتجمع می‌یابد که در نهایت میل ترکیبی کلی آنتی‌بادی نسبت به آنتی‌ژن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. پس از برخورد با آنتی‌ژن، آن دسته از سلول‌های B که پذیرنده‌هایی با میل ترکیبی بیشتری دارند، برای بقا انتخاب می‌گردند.

www.bbooks.ir

نتیجه این انتخاب، افزایش میل ترکیبی آنتی‌ژن در جمعیت سلول‌های Bخواهد بود. کل این روند، **بلوغ میل پیوندی**[1] نامیده شده که در مراکز زایا به وقوع می‌پیوندد.

- آخرین مرحله ایجاد تنوع، ارتباط ترکیبی زنجیرههای سبک و سنگین می‌باشد

در اثر بازآرایی مناطق متغیر، پتانسیل ایجاد ۶۶۲۴ ژن زنجیره سنگین و ۳۷۵ ژن زنجیره سبک وجود خواهد داشت. در صورتی که هر کدام از ژن‌های فوق به صورت تصادفی و همزمان با یکدیگر در یک سلول واحد شکل‌گیرند، از ترکیب شدن آنها ۲۴۸۴۰۰۰ حالت ترکیبی مختلف می‌توانند ایجاد شوند. این عدد احتمالاً از مقدار ایجاد شده توسط تنوع ترکیبی بیشتر می‌باشد، بدلیل این که کلیه قطعات V_Hو V_L با یکدیگر جفت نمی‌شوند. به علاوه روند نوترکیبی کاملاً تصادفی نمی‌باشد و تمامی قطعات ژنی V_H ، D یا V_L با فراوانی یکسان، به کار برده نمی‌شوند. برخی از آنها همیشه به کار می‌روند، برخی بعضی اوقات و برخی دیگر اصلاً کاربرد ندارند. با وجودی که محاسبه دقیق تعداد جایگاههای اتصال آنتی‌بادی که سیستم قادر به ایجاد آنها می‌باشد، مشکل است ولی، ما می‌دانیم که این مقدار نسبتاً زیاد می‌باشد. بدلیل این که تعداد بسیار زیادی از توالی‌های جدید که در اثر انعطاف‌پذیری اتصالی، افزودن نوکلئوتیدهای N و افزودن P در سومینCDR جای می‌گیرند، ساختار جایگاه اتصال آنتی‌بادی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. علاوه بر این منابع ایجاد تنوع در آنتی‌بادی، پدیده هایپرموتاسیون سوماتیک پس از تحریک آنتی‌ژنی نیز در گنجینه آنتی‌بادی‌ها تأثیر گذار می‌باشد.

- تنوع ژن ایمونوگلبولین در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد

گنجینه ابتدایی ژن‌های ایمونوگلبولین در انسان و موش به صورت پیکره‌ایی و در اثر بازآرایی ترکیبی قطعات V، (D) و J که در ژنوم رده زایا حضور دارند، ایجاد می‌شود. علاوه

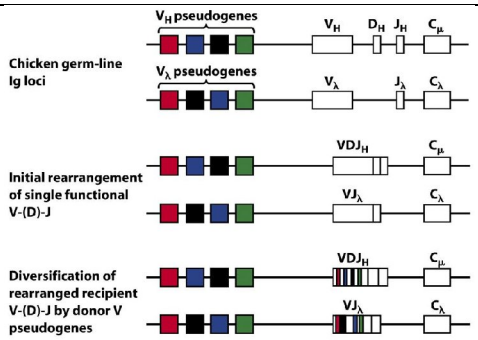
1- affinity maturation

www.bbooks.ir

برآن، این گنجینه اولیه در انسان و موش اغلب در مغز استخوان شکل می‌گیرد. در سایر مهره‌داران مسیری جدا از این الگو به چشم می‌خورد. درگوسفند، پرندگان، خرگوش، گاو و برخی دیگر از گونه‌ها، بیشتر این روند کلیدی در بافت‌های لنفاوی مرتبط با روده (GALT) رخ می‌دهد. همچنین گونه‌های متعددی وجود دارند که از مکانیسم‌هایی به غیر از (یا علاوه بر) بازآرایی ترکیبی ژن‌های V، (D) و J در رده زایا، جهت ایجاد گنجینه اولیه ژن‌های آنتی‌بادی بهره می‌برند. دو تفاوت عمده میان سایر گونه‌های متعدد و انسان و موش به چشم می‌خورد. اول این که در بسیاری از گونه‌ها تنها یک یا تعداد کمی بازآرایی در ژن‌های V(D)J صورت می‌گیرد که با تعداد زیاد بازآرایی‌های ژنی در انسان و موش تناقض دارد. دوم، پدیده هایپرموتاسیون سوماتیک و پدیده‌ای دیگر به نام معکوس شدن ژن، در سایر گونه‌ها به منظور ایجاد تنوع گسترده در ژن‌های بازآرایی شده به کار می‌روند و این در حالی است که در انسان و موش گنجینه ابتدایی ژن‌های بازآرایی شده توسط هایپرموتاسیون سوماتیک و معکوس شدن ژن، دچار تنوع بیشتر نخواهد گردید. طی عمل **معکوس شدن ژن**[1]، که یک مورد خاص از موتاسیون سومایتک می‌باشد، بخشی از یک توالی ژنی به عنوان گیرنده عمل کرده و قطعه متناظر خود را از توالی دهنده دریافت می‌کند. در این روش،ژن دهنده که توالی خود را حفظ کرده است به عنوان الگویی برای معکوس شدن بخشی از توالی گیرنده عمل می‌کند. در حقیقت، معکوس شدن ژن که فقط میان ژن‌های بسیار مشابه (تشابه بیش از ۸۰٪) رخ می‌دهد. گاهی اوقات **موتاسیون سوماتیک دارای الگو**[2] خوانده می‌شود. در مرغ‌ها، رده زایا تنها حاوی یک ژن عملکردی V_L، V_H و (D)-J بوده که می‌تواند بازآرایی گردد و تعداد بسیاری از ژن‌های کاذب که در بالا دست V_Hو V_λ قرار داشته و نمی‌توانند بازآرایی شوند (شکل ۱۵-۵).

1- gene conversion
2- templated somatic mutation

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۵: تنوع ایمونوگلبولینی در جوجه توسط تبدیل ژنی رخ می دهد. در رده زایای جوجه، ژن های Ig کارآمد V_H و V_κ قبل از ژن های کاذب قرار گرفته اند و بازآرایی این ژن ها موجب تشکیل یک V-D-J کارآمد می شود. تبدیل ژنی موجب تنوع در قطعات V ژن های بازآرایی شده V-D-J به همراه ژن های کاذبی می باشد که به صورت الگویی در بالادست ناحیه V قرار دارند.

در پی بازآرایی این ژن‌های محدود توسط RAG که منجر به تشکیل یک واحد V(D)J می‌گردد، سلول‌های B مرغ به عضوی به نام کیسه بورسا که بخشی از GALT در پرندگان می‌باشد، مهاجرت می‌کنند. در ریز محیط تخصص یافته بورسا، سلول‌های B به سرعت تکثیر یافته و معکوس شدن ژنی گسترده موجب ایجاد تنوع در ژن‌های بازآرایی شده ایمونوگلبولین خواهد شد.تعداد زیاد ژن‌های کاذبی که در بالا دست قرار دارند به عنوان دهنده قطعات کوتاه برای ژن‌های گیرنده که همان V(D)J بازآرایی شده هستند عمل می‌کنند. همانطور که در شکل ۱۵-۵ نشان داده شده، ژن‌های کاذب متعددی می‌توانند به عنوان دهنده برای یک ژن منفرد V(D)J عمل کنند و موجب اصلاح توالی‌های رده زایا در چندین منطقه گردند. علاوه بر معکوس شدن ژن، هایپرموتاسیون سوماتیک نیز در مرغ‌ها دیده می‌شود.

خرگوش‌ها نیز عمل بازآرایی ژنی را در تعداد کمی از ژن‌های V_H زنجیره سنگین انجام می‌دهند و گنجینه آنتی‌بادی خود را با معکوس شدن ژنی و هایپرموتاسیون سوماتیک، تنوع می‌بخشند. این عمل در خرگوش‌ها همانند پرندگان در GALT و خصوصاً در ریز محیط‌های

www.bbooks.ir

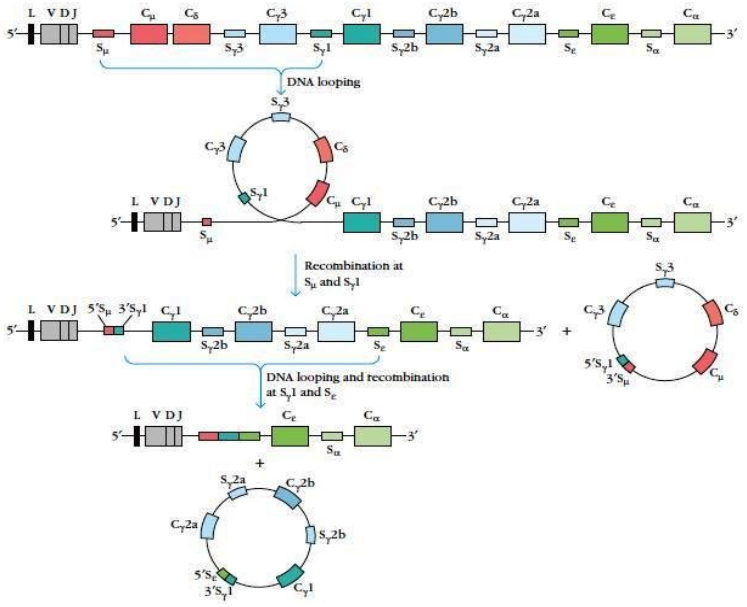
تخصص یافته آپاندیس صورت می‌گیرد. نشخوارکنندگانی مثل گاو و گوسفند گنجینه آنتی‌بادی خود را توسط هایپرموتاسیون سوماتیک در پلاک‌های پیرروده که نوعی از GALT می‌باشند، متنوع می‌کنند.

- تغییر کلاس در ژن‌های ناحیه ثابت

پس از تحریک آنتی‌ژنی یک سلول B، DNA زنجیره سنگین ممکن است تحت بازآرایی قرار گیرد به طوری که واحد $V_HD_HJ_H$ بتواند با هر کدام از قطعات ژنی C_H ترکیب گردد. مکانیسم دقیق این فرآیند که **تغییر کلاس** یا **تغییر ایزوتایپ** خوانده می‌شود، مشخص نمی‌باشد، ولی در این روند توالی‌هایی از DNA که ۲ تا ۳ کیلوباز در بالادست هر کدام از قطعات C_H (به غیز از $C\delta$) قرار داشته و نواحی سویچ[1] خوانده می‌شوند، دخالت دارند. این نواحی سویچ علیرغم بزرگ بودن (۲ تا ۱۰ کیلوباز) از تکرار توالی‌های کوچک (GAGCT , TGGGG) حاصل می‌شوند. یک فرضیه وجود دارد و آن این است که یک پروتئین یا مجموعه‌ای از پروتئین‌ها که ریکامبیناز سویچ را تشکیل می‌دهند، این تکرارها را شناسایی کرده و پس از اتصال، عمل نوترکیبی DNA را انجام می‌دهند که منجر به تغییر کلاس می‌گردد. پروتئین‌های تنظیمی داخل سلولی که با عنوان سایتوکاین‌ها شناخته می‌شوند، به عنوان فاکتور سویچ عمل کرده و نقش‌های اصلی را در تعیین کلاس خاصی از ایمونوگلبولین که در نتیجه تغییر کلاس، تولید و بیان می‌گردد، برعهده دارند. برای مثال، اینترلوکین ۴ (IL-4) موجب تغییر کلاس از $C\mu$ به $C\gamma1$ یا $C\varepsilon$ می‌گردد. در برخی موارد، مشاهده شده که IL-4 ابتدا موجب تغییر کلاس از $C\mu$ به $C\gamma1$ و سپس از $C\gamma1$ به $C\varepsilon$ می‌گردد(شکل ۱۶-۵).

1- switch regions

www.bbooks.ir



شکل ۱۶-۵: مکانیسم پیشنهادی تعویض رده القا شده توسط IL-4. در زنجیره های سنگین بازآرایی شده Ig، یک جایگاه تعویض در بالادست هر یک از قطعات C_H به جز قطعه C_δ قرار گرفته است. تشکیل محصولات حلقوی شامل بخش هایی از جایگاه های تعویض حاکی از آن است که IL-4 موجب القای تعویض رده متوالی از C_μ به $C_{\gamma1}$ و C_ε می شود.

آزمایش محصولات خروجی DNA، که طی تغییر کلاس از Cμ به Cγ1 ایجاد می‌شوند، نشان می‌دهد که یک محصول حلقوی که حاوی Cμ همراه با انتهای '۵ ناحیه سویچ γ1 (Sγ1)و انتهای '۳ ناحیه سویچ μ (Sμ) می‌باشد، ایجاد می‌شود. به علاوه، تغییر کلاس از Cγ1 به Cε یک محصول حلقوی تولید می‌کند که شامل Cγ1 همراه با قسمت‌هایی از نواحی سویچ μ، γ و ε می‌باشد. در مجموع تغییر کلاس به تقابل چهارعنصر وابسته می‌باشد، نواحی سویچ، یک ریکامبنیاز سویچ، پیام سایتوکاین که ایزوتایپ تولید شده توسط سلولB را تعیین کند و آنزیمی که سیتیدین دآمیتاز القا شده در اثر فعالیت (AID) نامیده می‌شود و نقش حیاتی آن در قسمت بعد شرح داده خواهد شد. توضیح کاملتر نقش سایتوکاین‌ها در تغییر کلاس در فصل ۱۱ بررسی خواهد شد.

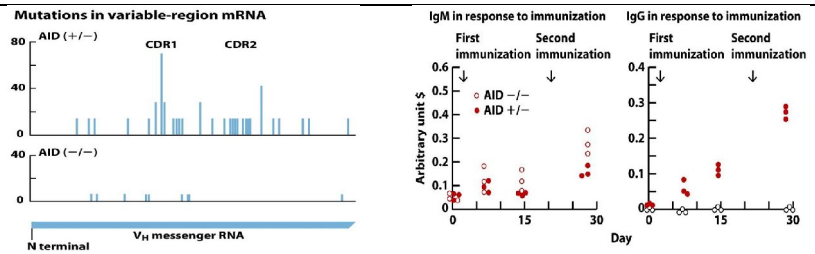
www.bbooks.ir

- AID واسطه هایپرموتاسیون سوماتیک و تغییر کلاس می‌باشد

در این بحش سه نوع مختلف ایجاد تغییر در ژن‌های ایمونوگلبولین در انسان و موش، عرضه شده است: نوترکیبی V(D)J ، هایپرموتاسیون سوماتیک و نوترکیبی تغییر کلاس. (توضیح معکوس شدن ژن در بخش دیگری آورده شده است.) بازآرایی و دسته‌بندی قطعات ژنی رده زایا طی نوترکیبی V-(D)-J یک ژن ایمونوگلبولین عملکردی را ایجاد می‌کند. هایپرموتاسیون سوماتیک، ناحیه متغیر ژن‌های ایمونوگلبولین را تعییر می‌دهد که قادر خواهد بود تا خصوصیات اتصال به آنتی‌ژن را در ایمونوگلبولینی که کد می‌کند را تحت تأثیر قرار دهد. نوترکیبی تغییر کلاس به یک واحد V(D)Jمشخص این امکان را می‌دهد تا با نواحی ثابت مختلف ترکیب گردد و عملکرد مولکول Ig را تعیین کند. ژن‌های فعال کننده بازآرایی RAG1 و RAG2 مسئول نوترکیبی V-(D)-J می‌باشند. تحثیقات اخیر نشان داده‌اند که آنزیم AID یا **سیتیدین دآمیناز القا شده در اثر فعالیت**[1] میانجی اصلی هایپرموتاسیون سوماتیک، معکوس شده ژن ونوترکیبی تغییر کلاس می‌باشد. AID به خانواده‌ای از آنزیم‌ها تعلق دارد که آنزیم‌های ویرایش کننده RNA خوانده می‌شوند. AID، سیتوزین‌های مشخصی را در mRNAهای خاصی دآمینه می‌کند و آنها را به یوراسیل مبدل می‌نماید و در نتیجه موجب تغییر (ویرایش) ساختارهای کدکننده پروتئین در آن mRNA می‌گردد. گزارشاتی نیز وجود دارد مبنی بر این که این آنزیم با دآمنیاسیون سیتوزین و تبدیل آن به یوراسیل، مستقیماً DNA را تغییر می‌دهد. نوکلئوتید یوراسیل جزو چهار نوکلئوتید معمول در DNA نبوده و این جایگاه سپس تعمیر شده که یا زوج A-T به جای C-G جایگزین شده و یا یوراسیل خارج شده و به جای آن هر کدام از ۴ نوکلئوتید ممکن، جایگزین می‌شود. هر چند که مکانیسم دقیق فعالیت AID تحت بررسی می‌باشد ولی اهمیت آن در هایپرموتاسیون سوماتیک و نوترکیبی تغییر کلاس تقریباً مشخص شده است (شکل ۵-۱۷a).

1- activation induced cytidine deaminase (AID)

www.bbooks.ir



شکل ۱۷-۵: اثبات آزمایشگاهی نقش آنزیم AID در تعویض رده و هایپرموتاسیون سوماتیک. (a) یک موش با بیان AID(+/-) و یک موش ژن تخریب شده AID(-/-) دو بار با یک کونژوگه هاپتن – حامل ایمن سازی شده و پاسخ های آنتی بادی ضد هاپتن آنها اندازه گیری شد. پاسخ های IgM در هر دو موش سنجیده شد. تولید IgG که مستلزم تعویض رده می باشد، تنها در موش های بیان کننده AID(+/-) رخ می دهد. (b) mRNA کدکننده نواحی متغیر آنتی بادی های فعال شده با آنتی ژن در موش های ایمن شده و بیان کننده AID و موش های ژن تخریب شده AID به طور متوالی قرار گرفته اند و موقعیت فراوانی جهش ها به صورت نقطه هایی مشخص شده است.

در تحقیقی برجسته که در دانشگاه کیوتو در ژاپن صورت گرفت، هونجو[1] و همکارانش موش‌های (AID-/-) در تغییر کلاس و هایپرموتاسیون سوماتیک با موش‌هایی که دارای یک نسخه سالم از ژن AID بودند (AID+/-) مقایسه گردید. اطلاعات شکل ۱۷b-۵ نشان می‌دهند که با شکل‌گیری پاسخ ایمنی در پی ایمونیزاسیون‌های موفق، موش‌های دارای نسخه عملکردی ژن AID ابتدا IgM و بعد IgG تولید کردند. در موش‌های فاقد ژن AID، پاسخ به ایمونیزاسیون علیه همان آنتی‌ژن تنها منجر به تولید IgM گردید. جهت ارزیابی‌هایپرموتاسیون سوماتیک، محققین، mRNA کد کننده ناحیه متغیر زنجیره سنگین آنتی‌بادی‌ها علیه آنتی‌ژن را در موش‌های (AID-/-) و (AID+/-) مورد آزمایش قرار دادند. آنها کشف کردند که در موش‌های با ژن تخریب شده، به هیچ عنوان هایپرموتاسیون دیده نمی‌شد. این نتیجه جالب بیانگر این مطلب بود که پروتئین AID هم برای تغییر کلاس و هم برای هایپرموتاسیون سوماتیک ضروری می‌باشد. این محققان در کار بعدی خود، ژن

1- Tasuku Honjo

www.bbooks.ir

AID را وارد سلول‌های فیبروبلاست کردند که نـه هایپرموتاسـیون سـوماتیک و نـه تغییـر کلاس را انجام نمی‌داد. با بیان AID در این سلول‌های غیر لنفوئید، هر دوی این مکانیسم‌هـا فعال گردیدند. این یافته بسیار ارزشمند، نشان داد که AID تنها فاکتور مـورد نیـاز جهـت انجام هر کدام از این فرآیندهای سلول B می‌باشد.

- بیان ژن‌های ایمونوگلبولین

همانند بسیاری از ژن‌ها، پردازش پس از رونویسی نسخه‌های اولیـه ایمونوگلبـولین جهـت تولید mRNAهای عملکردی ضروری می‌باشد (شکل ۴-۵ ، ۵-۵). نسخه‌های اولیه حاصـل از بازآرایی ژن‌های زنجیره سبک و سنگین حاوی توالی‌هایی از DNA مداخله‌گـر بـوده کـه شامل اینترون‌های غیر کدکننده و قطعات ژن J بـوده کـه طـی بـازآرایی V-(D)-J حـذف نشده‌اند. به علاوه، همانطور که قبلاً بیان شـد، قطعـات ژن C زنجیـره سـنگین بـه صـورت مجموعه‌ای از اگزون‌های کد کننده و اینترون‌های غیرکد کننده سـازماندهی شـده‌انـد. هـر اگزون قطعه ژنی C_H مسئول یک دومن از ناحیه ثابت و یا ناحیه لولا در پلـی‌پپتیـد زنجیـره سنگین می‌باشد. رونوشت اولیه می‌بایست پردازش شود تـا تـوالی‌هـای DNA مداخلـه گـر حذف شوند و اگزون‌های باقی مانده توسط روندی بـه نـام **اتصـال مجـدد RNA**[1] بـه هـم متصل شوند. به طور کوتاه، توالی‌های نسبتاً حفاظت شده برش و اتصال یا جایگاه‌های برش و اتصال موجود در رونوشت اولیه در مرزهای بین اینترون‌ها و اگزون‌ها واقع شده‌انـد و پیـامی را القا می‌کنند که می‌بایست عمـل بـرش و اتصـال در آن محـل صـورت گیـرد. پـردازش رونوشت اولیه در هسته، هر کدام از این توالی‌های مداخله‌گـر را حـذف کـرده تـا محصـول mRNA نهایی حاصل گردد. سپس، mRNA از هسته خـارج شـده تـا توسـط ریبـوزوم‌هـا ترجمه گردد و زنجیره‌های سبک و سنگین کاملی شکل گیرد.

1- RNA splicing

www.bbooks.ir

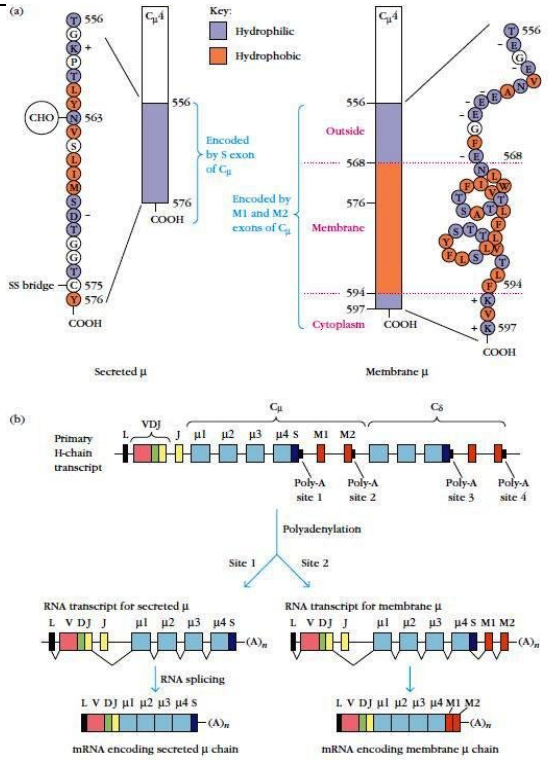
- نسخه‌های اولیه زنجیره سنگین تحت پردازش افتراقیRNA قرار می‌گیرند

پردازش نسخه اولیه زنجیره سنگین ایمونوگلبولین می‌تواند منجر به شکل‌گیری چندین mRNA مختلف گردد، که روشن می‌سازد چگونه یک سلول B واحد قادر خواهد بود اشکال ترشحی یا غشای یک ایمونوگلبولین خاص را تولید کند یا به صورت همزمان IgM و IgD را بیان کند.

- بیان ایمونوگلبولین غشایی یا ترشحی

همان‌طور که در فصل ۲ شرح داده شد، یک Ig خاص می‌تواند یا به صورت غشایی و یا ترشحی وجود داشته باشد. این دو شکل از نظر توالی اسیدآمینه‌ای دومن‌های انتهای کربوکسیل زنجیره سنگین (C_H3/C_H3 در IgA ، IgD و IgG و C_H4/C_H4 در IgE و IgM) با یکدیگر تفاوت دارند. اشکال ترشحی دارای یک توالی آبدوست به طول تقریباً ۲۰ اسید آمینه در دومن انتهای کربوکسیل خود هستند. که این توالی در اشکال غشایی با یک توالی ۴۰ اسید آمینه‌ای آبگریز که تا خارج سلول امتداد می‌یابد یک قطعه آبدوست که عرض غشا را طی می‌کند و یک قطعه کوتاه آبدوست سیتوپلاسمی، جایگزین می‌گردد (شکل ۵-۱۸a).

www.bbooks.ir



شکل ۱۸-۵: بیان اشکال غشایی و ترشحی زنجیره سنگین از طریق فرآیند پردازش متفاوت RNA. (a) توالی های اسیدآمینه انتهای کربوکسیل زنجیره های سنگین μ غشایی. (b) ساختار رونوشت های اولیه از یک ژن زنجیره سنگین بازآرایی شده که اگزون های C_μ و جایگاه های پلی A را نشان می دهد. پلی آدنیلاسیون هر یک از رونوشت های اولیه در جایگاه های ۱ و ۲ و نواحی پردازش که با خطوط شبیه V نشان داده شده است موجب ایجاد mRNAهای کد کننده زنجیره های μ ترشحی و غشایی می شود.

برای مدتی به نظر می‌رسید که حضور این دوشکل، با ساختار DNA زنجیـره سـنگین در رده زایا که حاوی یک قطعه ژن C_H برای هر کلاس و زیرکلاس بود، تناقض دارد.

حل این معما با تعیین تـوالی DNA قطعـه ژنـی Cμ کـه حـاوی ۴ اگـزون (Cμ1، Cμ2، Cμ3و Cμ4) برای ۴ دومن مولکول IgM بود، صورت گرفت. اگزون Cμ4 حاوی یک توالی نوکلئوتیدی (به نام S) در انتهای '۳ خود است که یـک تـوالی آبدوسـت را در دومـن C_H4

www.bbooks.ir

مولکول IgM ترشحی کد می‌کند. دو اگزون دیگر بـه نـام‌هـای M1 و M2 در فاصـله ۱/۸ کیلوبازی پایین دست انتهای '۳ اگزون Cμ4 قرار دارند. اگـزون M1 قطعـه غشـایی را کـد کرده و اگزون M2 نیز قطعه سیتوپلاسمی دومن Cμ4 را در IgM غشایی کد می‌کند. تعیین توالی، مشخص کرد که تمام قطعات C_H دارای دو اگزون اضافی M1 و M2 در پایین دست خود بوده که قطعات غشایی و سیتوپلاسمی را کد می‌کنند.

نسخه اولیه‌ای که در اثر رونویسی از ژن زنجیره سنگین μ بازآرایی شده حاصل می‌گردد، دارای دو توالی سیگنال برای پلی‌آدنیلاسیون در قطعه Cμ می‌باشد. جایگاه ۱ در انتهـای '۳ اگزون Cμ4 و جایگاه ۲ در انتهای '۳ اگزون M2 قرار دارد (شکل ۱۸b-۵). در صورتی کـه شکست نسخه اولیه و اضافه شدن دم پلی A در جایگاه ۱ صورت گیرد، اگـزون‌هـای M1 و M2 حذف می‌شوند و خارج شدن اینترون‌ها و اتصال اگزون‌هـا بـه یکـدیگر موجـب تولیـد mRNA کد کننده شکل ترشحی زنجیره سـنگین خواهـد شـد. در صـورتی کـه شکسـتن و پلی‌آدنیلاسیون نسخه اولیه در جایگاه ۲ صورت گیرد، الگوی دیگری از برش و اتصال مجدد حاصل می‌شود. در این مورد توالی S موجود در انتهای '۳ اگزون Cμ4 به اگزون‌های M1 و M2 اتصال می‌یابد در نتیجه mRNA شکل غشایی زنجیره سنگین ایجاد می‌شود.

همان‌طور که قبلاً اشاره شد، سلول‌های B دست‌نخورده بالغ، تنها آنتی‌بادی غشایی تولیـد می‌کنند، در حالی که پلاسماسل‌های تمایز یافته آنتی‌بادی‌های ترشحی می‌سازند. می‌بایسـت دقیقاً مشخص شود که چگونه سلول‌های Bدست نخـورده و پلاسماسـل‌هـا عمـل پـردازش RNA را به سمتی هدایت می‌کنند تا mRNA کد کننـده هـر کـدام از اشـکال غشـایی یـا ترشحی را تولید کنند.

- بیان همزمان IgM و IgD

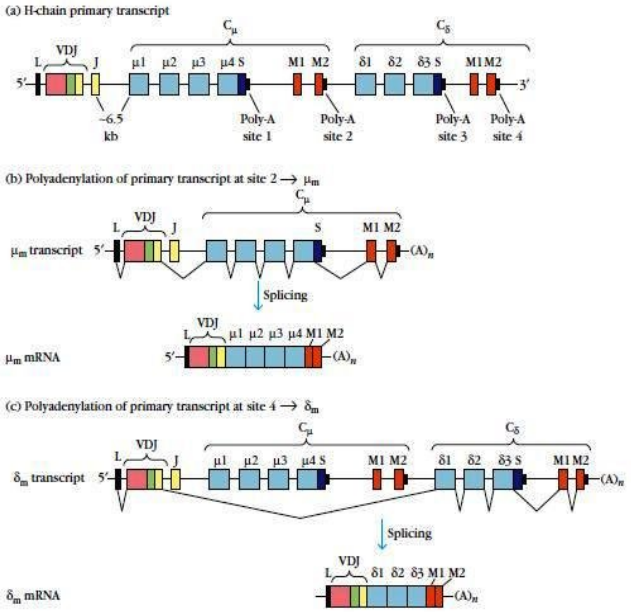
پردازش‌های افتراقی RNA، همچنین زمینه‌ای را برای بیان همزمان اشکال غشایی IgM و IgD توسط سلول‌های B بالغ فراهم می‌کند. همان‌طور که عنوان شـد، رونویسـی از ژن‌هـای

www.bbooks.ir

بازآرایی شده زنجیره سنگین در سلول‌های B بالغ باعث ایجاد نسخه‌های اولیه‌ای می‌گردد که حاوی هر دو قطعه ژنی Cμ و Cδ است. قطعات ژنی Cμ و Cδ در ژن بازآرایی شده، نزدیک یکدیگر می‌باشند (تنها ۵ کیلو باز از هم فاصله دارند) و عدم حضور جایگاه سویچ بین آنها اجازه می‌دهد تا کل ناحیه VDJCμCδ به یک نسخه اولیه RNA تبدیل شود که ۱۵ کیلو باز طول داشته و حاوی ۴ جایگاه Poly-A باشد (شکل ۱۹-۵). جایگاه ۱ و ۲ با Cμ ارتباط داشته و همان‌طور که در قسمت قبل گفته شد، جایگاه‌های ۳ و ۴ در قطعه ژنی Cδ حضور دارند. در صورتی که عمل شکسته شدن و پلی‌آدنیلاسیون رونوشت زنجیره سنگین در جایگاه ۲ بعد از اگزون‌های Cμ انجام شود، mRNA، شکل غشایی زنجیره سنگین μ را کد خواهد کرد (شکل ۱۹b-۵)، درصورتی که پلی‌آدنیلاسیون در جایگاه ۴ انجام شود، قطع و برش مجدد RNA موجب حذف اگزون‌های مداخله‌گر Cμ گشته و mRNA کد کننده شکل غشایی زنجیره سنگین δ ایجاد خواهد شد (شکل ۱۹c-۵).

به دلیل این که سلول B بالغ هم IgM و هم IgD را بر سطح غشا بیان می‌کند، می‌بایست هر دو مسیر پردازش فوق به صورت همزمان رخ بدهند. به همین ترتیب، شکسته شدن و پلی‌آدنیلاسیون رونوشت اولیه زنجیره سنگین در جایگاههای پلی‌آدنیلاسیون ۱ یا ۳ پلاسماسل، و برش و اتصال مجدد RNA، به ترتیب موجب دست‌یابی به شکل ترشحی زنجیره‌های سنگین μ و δ خواهد شد.

www.bbooks.ir



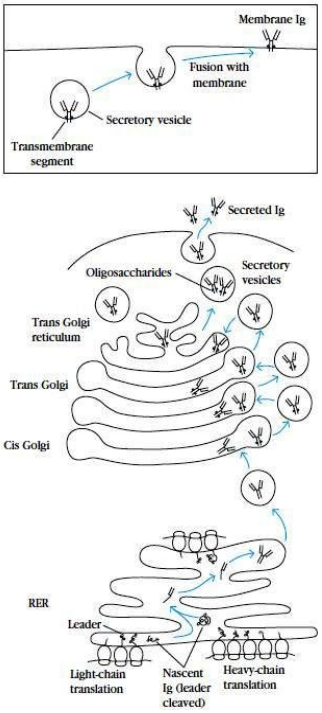
شکل ۱۹-۵: بیان اشکال غشایی زنجیره های سنگین μ و δ از طریق فرآیند پردازش متفاوت RNA. (a) ساختار ژن زنجیره سنگین بازآرایی شده نماینگر اگزون های C_μ و C_δ و جایگاه های پلی A می باشد. (b) ساختار رونوشت اولیه μ_M و μ_M mRNA ناشی از پلی آدنیلاسیون و پردازش در جایگاه ۲ می باشد. (c) ساختار رونوشت δ_M و δ_M mRNA ناشی از پلی آدنیلاسیون و پردازش در جایگاه ۴ می باشد.

- سنتز، اجتماع و ترشح ایمونوگلبولین‌ها

تولید آنتی‌بادی دارای مشکلات منحصر به فردی می‌باشد که با تنوع و میزان محصولات مرتبط می‌باشند. تنوع فوق‌العاده گنجینه آنتی‌بادی‌ها توسط مکانیسم‌های بازآرایی ژنتیکی، اتصالات غیردقیق قطعات V(D)J، افزودن نوکلئوتیدها به انتهای بریده شده این قطعات و در موارد زیادی هایپرموتاسیون سوماتیک حاصل می‌شود ولی علیرغم هزینه زیادی که صرف این تنوع می‌شود تعداد قابل توجهی از ژن‌های آنتی‌بادی کدون‌های پایان زودهنگامی را کسب می‌کنند و یا ایمونوگلبولین‌هایی تولید می‌شوند که تا خوردگی صحیحی ندارند. مشکل دوم مربوط به میزان تولید آنتی‌بادی توسط پلاسماسل‌ها می‌باشد. علاوه بر

www.bbooks.ir

پروتئین‌هایی که برای تمام فعالیت‌های متابولیکی و طبیعی آنها لازم می‌باشند، پلاسماسل‌ها اقدام به تولید و ترشح بیش از ۱۰۰۰ مولکول آنتی‌بادی به ازای هر سلول در هر ثانیه می‌کنند. به طور ساده حرکت وزیکول‌های داخل سلولی که حاوی محموله‌های آنتی‌بادی هستند، به سمت غشا جهت تخلیه آنها، نیازمند همکاری دقیق و کنترل ترافیک داخل سلولی می‌باشد. مانند تمامی پروتئین‌هایی که مقصد آنها غشایی سیتوپلاسمی است یا به محیط خارج سلولی تخلیه می‌گردند، پلی‌پپتیدهای ایمونوگلبولین نیز در شبکه اندوپلاسمی خشن (RER) سنتز می‌گردند. mRNAهای زنجیره سبک و سنگین ایمونوگلبولین بر روی پلی‌ریبوزوم‌های مجزای RER ترجمه می‌گردد (شکل ۲۰-۵).



شکل ۲۰-۵: سنتز، تجمع و ترشح مولکول ایمونوگلبولین.

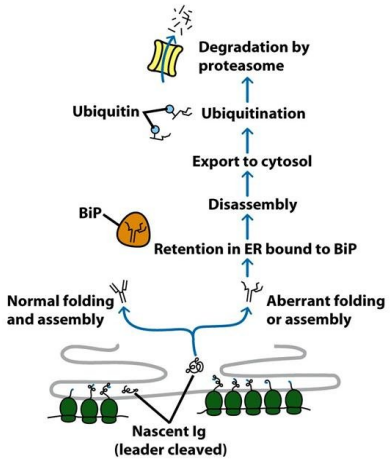
www.bbooks.ir

زنجیره‌های تازه ساخته شده حاوی یک توالی رهبر در انتهای آمینی خود هستند که عمل هدایت زنجیره‌ها را در لومن RER برعهده دارد. سپس این توالی شکسته می‌گردد. ترتیب اجتماع زنجیره‌های سبک (L) و سنگین (H) در کلاس‌های مختلف ایمونوگلبولین با هم تفاوت دارد. در مورد IgM، زنجیره‌های L و H داخل RER با هم مجتمع گردیده و نیمی از مولکول را می‌سازند و سپس دو نیمه مولکول با هم جمع شده تا مولکول کامل را ایجاد کنند. در مورد IgG، ابتدا دو زنجیره سنگین به هم متصل شده و سپس یک ترکیب واسطه H_2L شکل می‌گیرد و در نهایت مولکول کامل H_2L_2 ایجاد می‌شود. آنزیم‌های حاضر در RER، تشکیل پیوندهای دی‌سولفید میان زنجیره‌ها که برای اجتماع پلی‌پپتیدهای ایمونوگلبولین ضروری هستند؛ همانطور که پیوند S-S داخل زنجیره‌ای تأمین کننده تاخوردگی صحیح دومن‌ها هستند را کاتالیز می‌کنند، عمل گلیکولیزاسیون مولکول‌های آنتی‌بادی نیز توسط آنزیم‌های RER انجام می‌شود.

آنتی‌بادی‌ها براساس حضور دومن‌های آبدوست و آبگریز در انتهای کربوکسیل خود به سمت مقصد خود (ترشح یا اتصال به غشا) راهنمایی می‌شوند. آنتی‌بادی‌های متصل به غشا دارای توالی آبگریز بوده که در داخل غشای وزیکولی ترشحی فرو می‌رود. با ادغام وزیکول و غشای پلاسمایی، آنتی‌بادی‌ها در داخل غشای پلاسمایی مستقر خواهند شد (شکل ۲۰-۵). آنتی‌بادی‌هایی که دارای توالی آبدوست می‌باشند که مشخصه آنتی‌بادی‌های ترشحی است، به صورت مولکول‌های آزاد به داخل وزیکول‌های ترشحی منتقل می‌شوند و با ادغام وزیکول با غشای پلاسمایی آزاد می‌شوند.

شبکه اندوپلاسمی دارای مکانیسم‌های کنترل کیفی می‌باشد (شکل ۲۱-۵)،

www.bbooks.ir



شکل ۲۱-۵: کنترل کیفی در طی تولید آنتی بادی. مولکول های Ig که فاقد مرحله تجمع می باشند به صورت متصل با پروتئین Bip باقی می مانند. واکنش با Bip و عوامل دیگر موجب چین خوردن نا مناسب آنتی بادی و عدم تجمع و خروج آن از ER می شود.

که تضمین کننده خروج مولکول‌های کاملاً تجمع‌یافته و تخریب مولکول‌های Ig که به درستی تاخوردگی حاصل نکرده‌اند، می‌باشند. یکی از میانجی‌های این عملکرده Bip یا پروتئین متصل شونده به زنجیره سنگین ایمونوگلبولین می‌باشد که به مولکول‌های ایمونوگلبولین کاملاً تجمع نیافته متصل گردیده و از انواعی که کاملاً تجمع یافته‌اند جدا می‌گردد. توالی اختصاصی (لیزین، گلوتامات، آسپارتات ، لوسین) Bip موجب حفظ آن در رتیکولوم آندوپلاسمیک می‌گردد و در نتیجه مولکول‌های آنتی‌بادی ناکامل توانایی خروج از ER را نخواهند داشت. آنتی‌بادی‌هایی که به صورت ناقص تاخورده‌اند یا در RE باقی مانده‌اند در نهایت به منظور تخریب با پروتئینی به نام یوبی کیتین علامت‌گذاری می‌شوند. پروتئین‌های نشاندار شده با یوبی کیتین به خارج از هسته منتقل شده و توسط مجموعه‌های چند آنزیمی به نام **پروتئوزوم**[1] دچار پروتئولیز می‌گردند.

1- proteosomes

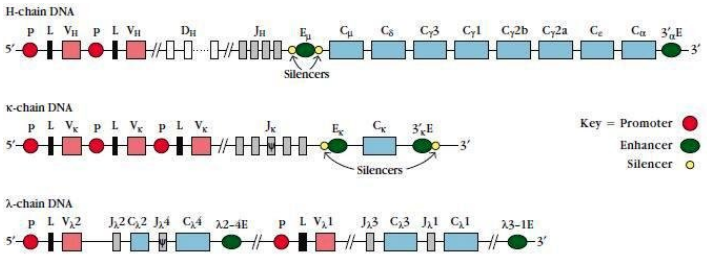
www.bbooks.ir

- تنظیم رونویسی از ژن‌های Ig

ژن‌های ایمونوگلبولین تنها توسط سلول‌های رده B بیان می‌شوند و حتی در داخل این رده نیز، طی رده‌های مختلف تمایزی، ژن‌ها با مقادیر متفاوتی بیان می‌گردند. همانند سایر ژن‌های یوکاریوتی، دو کلاس اصلی از توالی‌های تنظیم کننده cis وظیفه تنظیم نسخه‌برداری از ژن‌های ایمونوگلبولین را بر عهده دارند:

- **پروموترها**[1]: توالی‌های نسبتاً کوتاه نوکلئوتیدی، که تقریباً ۲۰۰ جفت باز بالاتر از جایگاه شروع نسخه‌برداری واقع شده‌اند و وظیفه پیش‌بردن شروع نسخه‌برداری RNA را در جهت خاصی برعهده دارند.
- **افزاینده‌ها**[2]: توالی‌های نوکلئوتیدی هستند که در فواصلی واقع در بالا دست یا پایین دست ژن قرار داشته و نسخه‌برداری را از توالی پروموتر و به صورت غیر وابسته به جهت، فعال می‌کنند.

جایگاه عناصر تنظیمی در DNA رده زایای ایمونوگلبولین در شکل ۲۲-۵ نشان داده شده است.



شکل ۲۲-۵: موقعیت پروموترها و افزاینده ها در DNA رده زایای زنجیره سنگین، زنجیره سبک κ و λ در موش.

1- promoters
2- enhancers

www.bbooks.ir

تمامی این عناصر دارای تجمعاتی از موتیف‌هایی می‌باشند که قادرند به صورت اختصاصی به یک یا تعداد بیشتری از پروتئین‌های هسته‌ای اتصال یابند.

هر کدام از قطعات V_H و V_L دارای پروموتری در بالادست توالی رهبر می‌باشند. به علاوه، اجتماع J_κ و هر کدام از ژن‌های D_H در ناحیه زنجیره سنگین با پروموتر آغاز می‌شوند. همانند سایر پروموترها، پروموترهای ایمونوگلبولین حاوی یک توالی حفاظت شده غنی از AT می‌باشند که جعبه TATA خوانده شده و محلی است برای اتصال پروتئین‌هایی که برای نسخه‌برداری RNA ضروری هسستند. عمل اصلی رونویسی توسط RNA پلی‌مراز II صورت می‌گیرد که این عمل از نقطه شروع که ۲۵ جفت باز در پایین دست جعبه TATA قرار دارد آغاز می‌کند. پروموترهای Ig همچنین دارای توالی‌های اکتامر حفاظت‌شده‌ای هستند که ویژگی سلول B در پروموتر را تعیین می‌کنند. توالی اکتامر به دو فاکتور نسخه‌برداری اتصال می‌یابد. یکی oct-1 که در بسیاری از انواع سلول‌ها یافت می‌شود و دیگری oct-2 که تنها در سلول‌های B به چشم می‌خورد.

با وجودی که بسیاری از اعمال افزاینده‌ها هنوز مشخص نمی‌باشد ولی آنها جایگاه‌های اتصالی برای تعدادی از پروتئین‌ها را فراهم می‌کنند که فاکتورهای نسخه‌برداری هستند. یک نقش بسیار مهم برعهده پروتئین‌هایی می‌باشد که توسط ژن E2A کد شده و مسئول برش و اتصال مجدد به منظور ایجاد دو پروتئین مشارکتی می‌باشند. این دو پروتئین که توسط E2A کد می‌شوند به افزاینده‌های اینترونی μ و κ اتصال می‌یابند و برای تکامل سلول‌های B ضروری هستند. موش‌های فاقد E2A دارای تعداد طبیعی از سلول‌های T بوده ولی کاملاً فاقد سلول B می‌باشند. نکته جالب توجه این است که انتقال این پروتئین‌های متصل شونده به افزاینده به سلول‌های T منجر به افزایش چشم‌گیری در نسخه‌برداری mRNA زنجیره μ و حتی القای بازآرایی D_H+J_H در سلول T می‌گردد.

یک افزاینده زنجیره سنگین در اینترون آخرین قطعه ژن J (3') و اولین قطعه ژن C (5') قرار داشته (Cμ) که زنجیره سنگین μ را کد می‌کند. بدلیل این که این افزاینده زنجیره

www.bbooks.ir

سنگین ($E\mu$) در سمت '۵ جایگاه سویچ $S\mu$ واقع شده،پس از تغییر کلاس، هنوز قادر به ادامه فعالیت خواهد بود. افزاینده دیگر زنجیره سنگین ($3'_{\alpha}E$) در سمت '۳ قطعه ژنی $C\alpha$ قرار دارد. یک افزاینده زنجیره سبک κ (E_{κ}) میان قطعات ژنی J_K و C_K قرار داشته و افزاینده دیگر ($3^{-}_{\kappa}E$) در سمت '۳ قطعه $C\kappa$ واقع شده است. افزاینده‌های زنجیره سبک λ در سمت '۳ $C\lambda 4$ و '۳$C\lambda 1$ قرار گرفته‌اند.

- بازآرایی DNA، رونویسی را شدت می‌بخشد

اتصال پروموترهای مرتبط با قطعات ژن V به RNA پلی‌مراز II بسیار ضعیف می‌باشد و افزاینده‌های ناحیه متغیر در DNA با فاصله نسبتاً زیادی از افزاینده‌ها (۲۵۰ تا ۳۰۰ کیلوباز) قرار گرفته‌اند. به همین دلیل میزان نسخه‌برداری نواحی کد کننده V_Hو V_L در DNA بازآیی نشده بسیار ناچیز می‌باشد. بازآرایی ژن ناحیه متغیر منجر به نزدیک شدن پروموتر و افزاینده به یکدیگر به مقدار ۲ کیلوباز و در نتیجه تأثیر افزاینده بر پروموتر مجاور خود می‌گردد. در نتیجه، میزان نسخه‌برداری از یک واحد بازآرایی شده V_LJ_L یا $V_HD_HJ_H$ ، 10^4 بار بیشتر از نسخه‌برداری از ژن بازآرایی نشده V_L یا V_H می‌باشد.

گاهی اوقات ژن‌هایی که تکثیر سلولی را تنظیم می‌کنند یا آپوپتوز را مهار می‌نمایند، به داخل لوکوس زنجیره سبک یا سنگین ایمونوگلبولین انتقال می‌یابند و در اینجا تحت تأثیر افزاینده‌های ایمونوگلبولین، بیان این ژن‌ها نیز به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد که منجر به مقادیر بالای رشد یا پروتئین‌های مهار کننده آپوپتوز می‌گردد. جابه‌جایی کروموزومی اونکوژن‌های C-myc و bcl-2 با لنفوم‌های بدخیم سلول B ارتباط دارد. جابجایی کروموزومی C-myc موجب بیان دائمی C-myc و یک لنفوم بدخیم سلول B به نام لنفوم بورکیت می‌گردد. جابجایی کروموزومی bcl-2 موجب تعلیق مرگ برنامه‌ریزی شده سلول B و در نتیجه لنفوم فولیکولی سلول B می‌شود. جزئیات این جابجایی‌های ایجادکننده سرطان در فصل ۲۱ بیان خواهد شد.

www.bbooks.ir

- بیان ژن ایمونوگلبولین در سلول‌های T مهار شده است

همان‌طور که قبلاً اشاره شد، جهش‌های اختصاصی جایگاه در سلول‌های B ، دارای معادلی در سلول‌های T می‌باشند. DNA کدکننده پذیرنده سلول T(TCR) دچار بازآرایی V-(D)-J شده تا ژن‌های TCR عملکردی را ایجاد کند. بازآرایی هر دو ژن ایمونوگلبولین و TCR با یک روند نوترکیبی یکسان توسط RAG-1 و RAG-2 و دخالت توالی‌های پیام نوترکیبی صورت می‌گیرد (شکل ۷-۵). علیرغم شباهت‌های این روندها، بازآرایی کامل ژن Ig تنها در سلول‌های B اتفاق افتاده و بازآرایی کامل ژن TCR نیز تنها محدود به سلول‌های T می‌شود.

هیتوشی ساکانو[1] و همکارانش نتایجی را بدست آوردند مبنی بر این که توالی موجود در افزاینده '۳ زنجیره κ ($3'_{\kappa}E$) نقش تنظیم اتصال Vκ به Jκ در سلول B و T را برعهده دارد. این توالی جایگاه اتصال PU.1 نام داشته و هنگامی که جهش در آن ایجاد شود، سلول T نیز همانند سلول B دچار اتصال Vκ-Jκ می‌گردد. آنها پیشنهاد کردند که اتصال یک پروتئین که تنها توسط سلول‌های T بیان می‌شود، به افزاینده جهش نیافته زنجیره κ، از اتصال Vκ-Jκ در سلول‌های Tممانعت به عمل می‌آورد. چنین روندی ممکن است از بازآرایی زنجیره سنگین و همچنین زنجیره سبک λ نیز در سلول T جلوگیری کند.

- ژن‌های آنتی‌بادی و مهندسی آنتی‌بادی

در بسیاری از کاربردهای بالینی، ویژگی بالای یک آنتی‌بادی منوکلونال موشی از اهمیت زیادی برخوردار است. هر چند که با ورود آنتی‌بادی موشی به بدن انسان، به عنوان بیگانه قلمداد شده و منجر به شکل‌گیری آنتی‌بادی انسانی ضد موش (HAMA) گشته که موجب پاکسازی سریع آنتی‌بادی منوکلونال موشی از جریان خون و کاهش ظرفیت درمانی آنتی‌بادی تجویز شده می گردد. مجموعه‌های در گردش آنتی‌بادی‌های انسان و موش می‌توانند منجر به واکنش‌های آلرژیک و در برخی موارد تشکیل چنین مجموعه‌هایی در

1- Hitoshi Sakano

www.bbooks.ir

اعضایی مانند کلیه باعث واکنش‌های جدی و حتی مـرگ گردنـد. یـک راه اجتنـاب از ایـن واکنش‌های نامطلوب، استفاده از آنتی‌بـادی‌هـای منوکلونـال انسـانی در کاربردهـای بـالینی می‌باشد. هر چند که استفاده از تکنولوژی هیبریدوما جهت تهیه آنتی‌بـادی‌هـای منوکلونـال انسانی بـا مشـکلات متعـدد تکنیکـی همـراه بـوده و تولیـد هیبریـدوماهای ترشـح کننـده آنتی‌بادی‌های انسانی سخت می‌باشد. جهت غلبه بـر ایـن مشـکلات، روش‌هـای جـایگزین مهندسی آنتی‌بادی که از تکنولوژی DNA نوترکیب استفاده می‌کنند، شکل گرفته‌اند.

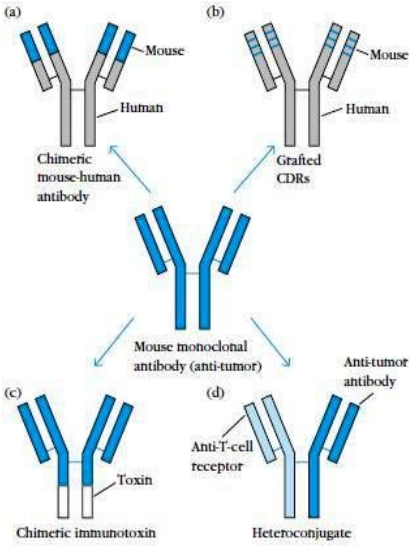
آگاهی از توالی‌های ژن آنتی‌بادی و ساختمان آن با تکنیک‌های بیولوژی مولکـولی ترکیـب شده و «**آنتی‌بادی‌های ساخت انسان**» را ایجاد کرده است. اکنون این امکان فراهم می‌باشد تا بتوان آنتی‌بادی‌هایی را طراحی و سنتز کرد که ناحیه متغیر آن از یک گونه مثل مـوش و ناحیه ثابت آن از گونه‌ای دیگر مثل انسان باشد. ژن‌های جدیدی ایجاد شده‌اند که توالی‌های نوکلئوتیدی کدکننده پروتئین‌های غیر آنتی‌بادی را بـه تـوالی‌هـای کدکننـده ناحیـه متغیـر آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های خاصی را مرتبط می‌کنند. این هیبریدهای مولکولی کـه **کـایمرا**[1] خوانده می‌شوند قادرند سموم قوی را به اهداف آنتی‌ژنی خاص مثـال سـلول‌هـای تومـوری تحویل دهند. با تهیه یک نمونه از تمـامی ژن‌هـای ناحیـه متغیـر زنجیـره سـبک و سـنگین ایمونوگلبولین در کتابخانه‌های باکتریوفاژها، این امکان وجـود خواهـد داشـت بـا تـوان کـل گنجینه آنتی‌بادی افراد را بازسازی کرد. در انتها، با جایگزینی لوکـوس ایمونوگلبـولین یـک گونه در یک گونه دیگر، حیوانات متعلق به یک‌گونه مثل گاو یا مـوش مجهـز بـه ظرفیـت پاسخگویی به ایمونیزاسیون و تولید آنتی‌بادی‌هایی مـی‌شـوند کـه توسـط ژن‌هـای پیونـدی ایمونوگلبولین انسانها کد می‌گردند.

1- chimeras

www.bbooks.ir

- آنتی‌بادی‌های کایمریک و انسانی شده ظرفیت بالینی قدرتمندی دارند

یک روش مهندسی آنتی‌بادی،کلون کردن DNA نوترکیب حاوی پروموتر، توالی رهبر و توالی‌های ناحیه متغیر از یک ژن آنتی‌بادی موشی و اگزون‌های ناحیه ثابت از یک ژن آنتی‌بادی انسانی می‌باشد(شکل ۲۳-۵).



شکل ۲۳-۵: مهندسی آنتی بادی با تکنولوژی DNA نوترکیب. (a) آنتی بادی منوکلونال کایمری موش-انسان دارای دومن های V_H و V_L از آنتی بادی منوکلونال موش و دومن های C_H و C_L از آنتی بادی منوکلونال انسان می باشند. (b) یک آنتی بادی منوکلونال انسانی شامل تنها CDR های یک آنتی بادی منوکلونال موش می باشد که به نواحی داربست یک آنتی بادی منوکلونال انسانی پیوند زده شده است. (c) یک آنتی بادی منوکلونال کایمری که در آن دومن Fc انتهایی با زنجیره ی توکسین جایگزین شده است. (d) یک هتروکونژوگه که در آن نیمی از مولکول آنتی بادی موشی ویژه یک آنتی ژن تومور و نیمی از آن ویژه CD3/TCR می باشد.

آنتی‌بادی کدشده توسط چنین ژن نوترکیبی یک کایمرای موشی – انسانی بوده که تحت عنوان **آنتی‌بادی کایمریک**[1] شناخته می‌شود. ویژگی آنتی‌ژنیک آن که توسط ناحیه تغییر

1- chimeric antibody

www.bbooks.ir

تعیین می‌شود از DNA موش مشتق می‌شود و ایزوتایپ آن توسط ناحیه ثابت DNA انسان تعیین می‌گردد. بدلیل این که نواحی ثابت این آنتی‌بادی‌ها توسط ژن‌های انسان کد می‌شوند، این آنتی‌بادی‌ها نسبت به آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی دارای شاخص‌های آنتی‌ژنی موشی کمتری بوده و در نتیجه ایمنی‌زایی کمتری خواهند داشت (شکل ۲۳a-۵). یکی از چنین آنتی‌بادی‌های کایمریک موشی- انسانی برای درمان برخی از بیماران مبتلا به لنفوم غیرهوجکین به کار رفته است (قسمت تمرکز بالینی). بدلیل این که تمامی نواحی V_Hو V_L آنتی‌بادی‌های کایمرک، موشی می‌باشند، این نواحی حاوی مقادیر قابل توجهی از توالی‌های Ig موش بوده که می‌توانند موجب برانگیختن پاسخ HAMA گردند. خوشبختانه می‌توان آنتی‌بادی‌هایی را مهندسی کرد که تمامی قسمت‌های آن به جز نواحی CDR انسانی باشد. طرح شماتیک این **آنتی‌بادی انسانی شده**[1] در شکل ۲۳b-۵ به نمایش گذاشته شده است. آنتی‌بادی‌های انسانی شده دارای عملکردهای بیولوژیک آنتی‌بادی انسانی بوده و در شروع فعال کردن کمپلمان و اعمال با واسطه پذیرنده Fc مثل فاگوستیوز، بسیار مؤثرتر از آنتی‌بادی‌های موشی می‌باشند. آنتی‌بادی‌های منوکلونال کایمریک می‌توانند به عنوان ایمونوتوکسین نیز عمل کنند. برای مثال، می‌توان دومن انتهایی ناحیه ثابت یک آنتی‌بادی اختصاصی تومور را به یک ماده نشاندار رادیواکتیو مثل ایتریوم-۹۰ یا توکسینی مثل دیفتری متصل کرد (شکل ۲۳c-۵). این ایمونوتوکسین‌ها به صورت انتخابی به سلول‌های توموری اتصال یافته و آنها را به صورت اهدافی بسیار اختصاصی برای معرف‌های درمانی در آورند.

هتروکونژوگه‌ها[2] یا **آنتی‌بادی‌های دو اختصاصیتی**[3]، هیبریدهایی از دو مولکول متفاوت آنتی‌بادی می‌باشند (شکل ۲۳d-۵). این آنتی‌بادی‌ها در اثر اتصال متقاطع شیمیایی دو آنتی‌بادی مختلف یا از ادغام دو رده سلولی تولید کننده آنتی‌بادی منوکلونال در هیبریدوما

1- humanized antibody
2- heteroconjugaters
3- bispecific antibodies

www.bbooks.ir

حاصل می‌شوند. در هر دوی این روش‌ها آنتی‌بادی‌های تک اختصاصیتی و دو اختصاصیتی تولید می‌شوند و در صورتی که آنتی‌بادی دو اختصاصیتی مدنظر باشد، این مولکول می‌بایست خالص‌سازی شود. روش ساده‌تر کاربرد مهندسی ژنتیک در ساخت ژن‌هایی است که مولکول‌هایی که تنها دارای دو ویژگی می‌باشند را کد می‌کنند. چندین مولکول طراحی شده‌اند که نیمی از مولکول آنتی‌بادی دارای ویژگی برای سلول توموری و نیمه دیگر دارای ویژگی برای مولکول سطحی یک سلول مؤثر ایمنی مثل سلول NK یا CTL هستند که در نتیجه سلول توموری توسط یک سلول عملکردی از بین خواهد رفت.

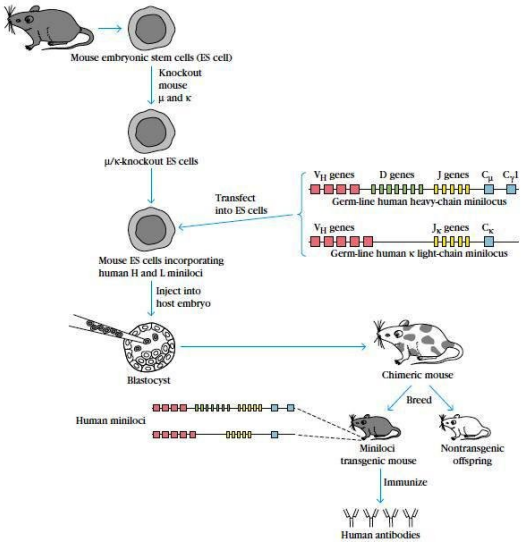
- موش‌هایی که تحت مهندسی لوکوس ایمونوگلبولین انسان قرار گرفته‌اند

با استفاده از تکنیک از کار انداختن ژن می‌توان ظرفیت بازآرایی زنجیره‌های سبک و سنگین را در موش از کار انداخت. این موش‌ها هیچگونه Ig موشی نساخته و بدلیل این که تکامل سلول‌های B به تولید ایمونوگلبولین μ عملکردی نیاز دارد. این موش‌ها فاقد سلول‌های B نیز می‌باشند. هر چند که با معرفی لوکوس عملکردی Ig موشی به چنین موش‌هایی می‌توان توانایی تولید سلول‌های B و آنتی‌بادی را در آنها بازیابی کرد. برخی محققین نشان داده‌اند که معرفی بخش‌هایی از لوکوس L, H انسانی به این موش‌ها می‌تواند منجر به تکامل سلول‌های B تولید کننده آنتی‌بادی انسانی می‌شود. هر چند که لوکوس کامل Ig انسانی بخش بزرگی از DNA رده زایا را به خود اختصاص می‌دهد (لوکوس H انسانی ۱/۵ میلیون باز و لوکوس λ انسان ۱ میلیون باز) و مشکلات تکنیکی مانع از معرفی کل لوکوس H و L انسانی به موش می‌گردد، تنها می‌توان بخشی از قطعات این لوکوس‌ها را معرفی کرد و در نتیجه تمام اجزای این لوکوس بزرگ و پیچیده عرضه نخواهد شد. در تحقیق جدیدی که توسط **ایشیدا**[1] و همکارانش جهت مقابله با این مشکل انجام شده است، یک کروموزوم انسانی مصنوعی (HAC) ساخته شد که حاوی کل لوکوس زنجیره سنگین و

1- Ishida

www.bbooks.ir

زنجیره λ بود. سپس آنها HAC را وارد سلول‌های بنیـادی جنینـی موشـهایی کـه فاقـد ژن زنجیره سبک و سنگین بودند، کردند و رده‌هایی از موش‌های ترانس ژنیک را ایجـاد کردنـد که در اثر تحریک آنتی‌ژنی با سرم آلبومین انسانی، آنتی‌بادی‌های انسانی ضد سرم آلبـومین انسانی تولید خواهند کرد.



شکل ۲۴-۵: آنتی بادی انسانی از موش حامل یک کروموزوم مصنوعی انسانی (HAC) می باشد که حاوی جایگاه کامل زنجیره سنگین و سبک انسانی می باشد.

- در کتابخانه‌های ژنی فاژی بدون ایمن‌سازی می‌توان آنتی‌بادی منوکلونال تهیه کرد

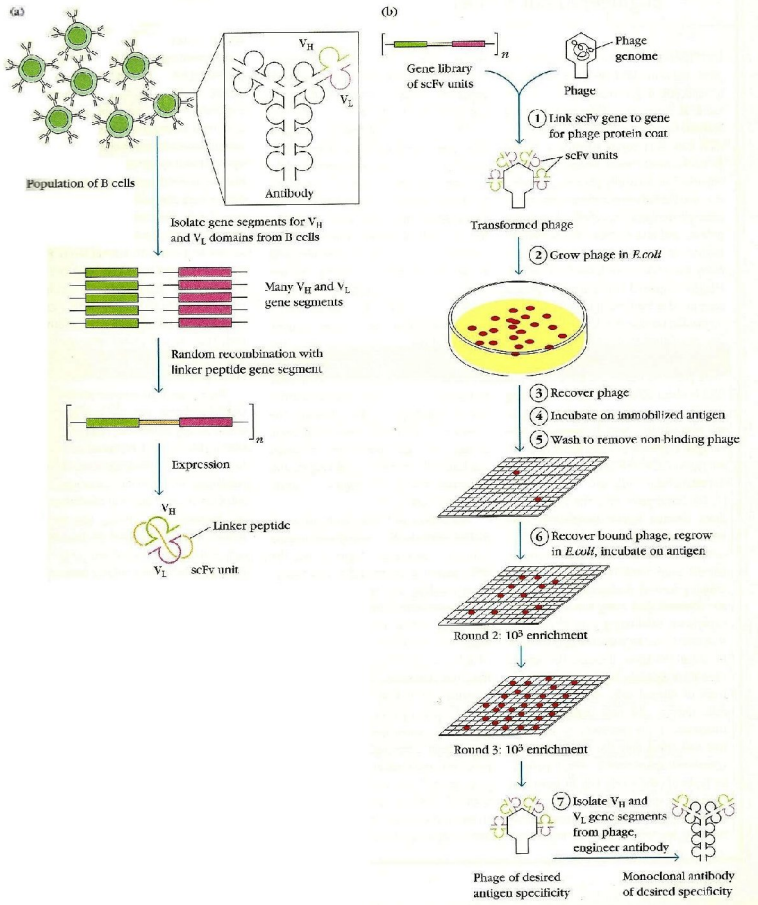
دیگر روش نزدیک شده به تولید آنتـی‌بـادی‌هـای منوکلونـال، کنـار گذاشـتن تکنولـوژی هیبریدوما به طور کامل است. این کار بر روی جمعیتـی از سـلول‌هـای B و قطعـاتی از ژن بازآرایی شده نواحی V_H و V_Lآنتی‌بادی‌های سلولB انجـام مـی‌شـود. نتیجـه حاصـل، یـک کتابخانه گسترده و بزرگ از ژن‌های V_Hو V_L خواهد بود که گنجینه ژن‌هایV بازآرایی شده را در جمعیت سلول‌های B نشان می‌دهد. سپس این ژن‌هـای V_H و V_L توسـط یـک تـوالی

www.bbooks.ir

پپتیدی رابط به یکدیگر متصل می‌شوند تا مجموعه ای از ژن های کدکننده پلی پپتدی تحت عنوان **قطعه متغیر تک‌زنجیره‌ای** (scFv) ایجاد شود (شکل ۲۵a-۵). در هر واحد scfv، یک دومن V_H با یک V_L جفت می‌شود تا کوچکترین واحد اتصال به آنتی‌ژن شکل گیرد. در قطعت scfv هر کدام از قطعات V_H می‌توانند به هریک از قطعات V_L اتصال یافته تا کتابخانه ژن فاژی شکل گیرد. کتابخانه‌های فاژی حاوی بیش از $۱۰^{۱۱}$ عضو واحد می‌باشند. این سطح تنوع با گنجینه انسانی قابل مقایسه بوده و این کتابخانه‌های بسیار متنوع حاوی جایگاههای اتصال آنتی‌ژنیک برای طیف گسترده‌ای از آنتی‌ژن‌ها می‌باشند. قدرت ژن‌های یک کتابخانه بزرگ از واحدهای scFv در پروتکلی بنام **تکنولوژی نمایش فاژ**[1] به خدمت گرفته شده است (شکلb ۲۵-۵).

1- phage display technology

www.bbooks.ir



شکل ۲۵-۵: تولید یک کتابخانه بیان فاژی حاوی جایگاه اتصال آنتی بادی. (a) تولید کتابخانه scFvb (b) کتابخانه scFv که در فاژها کلون می شود در آلودگی باکتری E.coli استفاده می گردد. رشد باکتری آلوده با فاژ موجب تولید یک کتابخانه فاژی می شود که بر روی پلیت های پوشیده با آنتی ژن غربالگری شده تا این که وجود فاژی که به آنتی ژن مشخص متصل می شود، بررسی شود. چرخه های تکراری از رشد این ارگانیسم ها منجر به غنی سازی فاژهای ویژه آنتی ژن می شود. کلون های فاژ ویژه آنتی ژن را می توان ایزوله کرد و تکنیک هایی از تکنولوژی DNA نوترکیب جهت پیوند ژن های دومن های V_H و V_L از فاژهای انتخابی به نواحی ثابت یک آنتی بادی به کار برد تا این که یک mAb با ویژگی آنتی ژنی مشخص مهندسی شود.

www.bbooks.ir

فاژها (مخفف باکتریوفاژها) ویروس‌های باکتریایی بوده که از یک ژنوم و یک پوشش پروتئینی تشکیل شده‌اند. از مهندسی ژنتیک جهت اتصال ژن‌های کد کننده واحدههای scFv با ژن کدکننده یکی از پوشش‌های پروتئینی که بر سطح فاژ بارز می‌شوند، استفاده می‌گردد. سپس فاژنی که انتقال ژن به آن صورت گرفته، پروتئین‌های سطحی تغییر یافته‌ای را بارز می‌کنند که واحد scFv را به نمایش می‌گذارند. ذخایر عظیم ژن‌های scFv ($۱۰^{۶}$ تا $۱۰^{۹}$ جایگاه اتصال مختلف) را می‌توان با کلون کردن به داخل فاژها تهیه کرد که **کتابخانه نمایشی فاژ** خوانده می‌شود.

جمعیت‌های فاژ با ورود به E.coli تقویت می‌گردند. سپس بوسیله انکوباسیون فاژهای بدست آمده با یک آنتی‌ژن بی‌حرکت شده می‌توان آنها را غربال کرده فاژهایی که به آنتی‌ژن متصل نمی‌شوند، توسط شستشو خارج می‌شوند و تنها فاژهایی که واحدهای scFV اختصاصی آنتی‌ژن را بیان می‌کند بعلاوه تعدادی که به صورت غیر اختصاصی به پلیت متصل شده‌اند، باقی می‌مانند. به منظور غنی‌سازی بیشتر، عفونت E.coli دوباره تکرار شده و پس از آن، مراحل انتخاب مجدداً صورت می‌پذیرد. با تکرار مراحل رشد، انتخاب آنتی‌ژنی و برداشت محصول، امکان جداسازی یک فاژ از $۱۰^{۹}$ فاژ اختصاصی آنتی‌ژن بوجود خواهد آمد.

با شناسایی فاژهای حامل جایگاههای اتصال مناسب، تکنیک‌های مهندسی ژنتیک جهت بازیابی نواحی کدکننده V_H و V_L از ژنوم فاژ به کار می‌روند تا آنها را به داخل ژنوم کدکننده نواحی سبک و سنگین ایمونوگلبولین پیوند بزنند. با بیان ژن‌های مهندسی شده زنجیره‌های سبک و سنگین در سلول‌ها، یک آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی برای آنتی‌ژنی دلخواه تولید می‌شود. بنابراین این امکان وجود خواهد داشت تا مسیرهای ایمونیزاسیون و استفاده از تکنیک‌های هیبریدوما را کاملاً کنار گذاشت. علاوه بر آن، در صورتی که کتابخانه فاژی با استفاده از سلول‌های B انسانی به عنوان منبع V_Hو V_Lتولید شوند، و این قطعات به نواحی ثابت سبک و سنگین انسانی اضافه شوند، آنتی‌بادی تولید شده کاملاً انسانی خواهد

www.bbooks.ir

بود. در واقع، این روش با موفقیت در تولید آنتی‌بادی منوکلونـال انسـانی علیـه سـایتوکاین التهابی TNF-α به کار رفته است. این آنتی‌بادی، مجوز دریافت کرده و بـه منظـور درمـان آرتریت روماتوئید مورد استفاده بالینی قرار می‌گیرد.

- خلاصه

- زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلبولین توسط سه خانواده چند ژنی مجزا که هر کدام از چندین قطعه ژنی تشکیل شده‌اند و روی کروموزوم‌های مختلفی قرار گرفته‌اند،کد می‌شوند.
- ژن‌های عملکردی زنجیره‌های سبک و سنگین، بواسطه بازآرایی‌های تصادفی قطعات ژنی ناحیه متغیر موجود در DNA رده زایا ایجاد می‌شوند.
- اتصال V(D)J توسط RAG1 و RAG2 و دخالت سایر آنزیم‌ها و پروتئین‌ها صورت می‌گیرد. و اتصال قطعات توسط توالی‌های پیام نوترکیبی (RSSs) که توالی‌های حفاظت‌شده DNA در طرفین قطعات ژنی V، D و J هستند، راهنمایی می‌شود.
- هر کدام از توالی‌های پیام نوترکیبی حاوی یک توالی هپتامر حفاظت شده، یک توالی نونامر حفاظت شده و یک فاصله گذار ۱۲ جفت بازی (یک طرفه) یا ۲۴ جفت بازی (دو طرفه) می‌باشد. طی بازآرایی، قطعات ژنی دارای فاصله‌گذار یک طرفه تنها به قطعات ژنی دارای فاصله گذار دو طرفه اتصال می‌یابند که تضمین کننده اتصال مناسب V_L-J_L و V_H-D_H-J_H می‌باشد.
- بازآرایی ژنی ایمونوگلبوین به صورت ترتیبی انجام می‌شود: ابتدا بازآرایی‌های زنجیره سنگین و سپس بازآرایی‌های زنجیره سبک، انحصار آللی نتیجه بازآرایی عملکردی DNA ایمونوگلبولین می‌باشد و به منظور تضمین این که هر سلول B، ایمونوگلبولینی با یک ویژگی آنتی‌ژنی را بیان کند، ضروری می‌باشد.

www.bbooks.ir

- مبنع اصلی تنوع آنتی‌بادی که می‌تواند بیش از $۱۰^{۱۰}$ جایگاه اتصال را تولید کند، اتصال تصادفی قطعاتی ژنی V، D و J، ارتباط تصادفی زنجیره‌های سبک و سنگین، انعطاف‌پذیری اتصالی، افزودن P، افزودن N و جهش‌های سوماتیک می‌باشد. هر چند که در برخی گونه‌ها، مثل پرندگان ونشخوارکنندگان، فرآیندهای تنوع بخشی سوماتیک، ایجاد کنندگان اصلی تنوع می‌باشند.
- در پی ایمونیزاسیون، عامل اصلی تولید آنتی‌بادی‌های با میل ترکیبی زیاد به آنتی‌ژن مورد استفاده، هایپرموتاسیون سوماتیک می‌باشد.
- پس از تحریک آنتی‌ژنی سلول‌های B بالغ، تعویض کلاس، منجر به بیان کلاس‌های متفاوت آنتی‌بادی (IgG ، IgA و IgE) با یک ویژگی آنتی‌ژنی می‌گردد.
- ستیدین‌دآمنیاز القا شده در اثر فعالیت (AID) برای هایپرموتاسیون سوماتیک، تعویض کلاس و معکوس کردن ژن، ضروری می‌باشد.
- پردازش افتراقی RNA منجر به تولید آنتی‌بادی متصل به غشا در سلول‌های B بالغ، آنتی‌بادی ترشحی در پلاسماسل‌ها و بیان همزمان IgM ، IgD توسط سلول‌های B بالغ می‌گردد.
- نسخه‌برداری از ژن‌های ایمونوگلبولین، حداقل توسط دو نوع از توالی‌های تنظیمی DNA به نام‌های پروموترها و تشدید کننده‌ها تنظیم می‌شود.
- افزایش دانسته‌های ما در زمینه بیولوژی مولکولی ژن‌های ایمونوگلبولین، مهندسی کردن آنتی‌بادی‌ها به منظور کاربردهای تحقیقاتی و درمانی را فراهم کرده است. روش‌های مورد استفاده شامل آنتی‌بادی‌های کایمریک، کتابخانه‌های ژنIg بر پایه فاژ و وارد کردن کل لوکوس ایمونوگلبولین انسانی در ژنوم موش و گاو به منظور تولید آنتی‌بادی‌های انسانی می‌باشند.

www.bbooks.ir

سئوالات درسی

۱- درست یا نادرست بودن هر کدام از عبارات زیر را مشخص کنید. در صورتی که تصور می‌کنید عبارتی نادرست است، دلیل آن را توضیح دهید.

الف) قطعات ژنی Vκ گاهی اوقات به قطعات Cλ اتصال می‌یابند.

ب) به غیر از تغییر به IgD ، تغییر کلاس ایمونوگلبولین بواسطه بازآرایی‌های DNA صورت می‌گیرد.

پ) اگزون‌های مجزا، بخش غشایی هر مولکول آنتی‌بادی غشایی را کد می‌کنند.

ت) با وجودی که هر سلول B دو آلل کدکننده زنجیره‌های سبک وسنگین ایمونوگلبولین را کد می‌کنند، تنها یک آلل بیان خواهد شد.

ث) نسخه‌های اولیه به mRNA عملکردی پردازش می‌شوند که این کار توسط حذف اینترون‌ها، کلاهک‌گذاری و اضافه کردن دم‌پلی A انجام می‌شود.

ج) نسخه اولیه یک RNA مکمل زنجیره کدکننده DNA بوده ودارای اگزون و اینترون می‌باشد.

۲- توضیح دهید که چرا یک قطعه V_H نمی‌تواند مستقیماً به یک قطعه J_H در زنجیره سنگین اتصال یابد.

۳- با توجه به اتصال ترکیبی ژن‌ها و ارتباط زنجیره‌های سبک و سنگین، از یک DNA حاوی ۵۰۰ قطعه V_L، ۴ قطعه ژنی J_L ، ۳۰۰ قطعه V_H، ۱۵ قطعه D_H و ۴ قطعه ژنی J_Hچند مولکول آنتی‌بادی می‌تواند ایجاد شود؟

۴- برای هر کدام از عبارات ناقص زیر (الف تا چ) عبارت (های) مکمل را انتخاب کنید.

الف)نوترکیبی قطعات ژنی ایمونوگلبولین به منظور ---------- انجام می‌شود.

۱- ایجاد تنوع آنتی‌بادی

www.bbooks.ir

۲- جمع‌کردن توالی کامل کدکننده Ig

۳- اجازه دادن به ایجاد تغییر در توالی کدکننده طی بلوغ سلول B

۴- افزایش میل ترکیبی Ig به آنتی‌ژن

۵- تمامی موارد فوق

ب)جهش سوماتیک ژن‌های ایمونوگلبولین مسئول ---------- می‌باشد

۱- انحصار آللی

۲- تغییر کلاس از IgM به IgG

۳- بلوغ میل ترکیبی

۴- تمامی موارد فوق

۵- هیچ‌کدام

پ)فراوانی جهش سوماتیک ژن‌های Ig طی ---------- بیشترین مقدار می‌باشد.

۱- تمایز از سلول‌های Pre-B به سلول‌های B بالغ

۲- تمایز از سلول‌های Pre-T به سلول‌های T بالغ

۳- ایجاد سلول‌های B خاطره‌ای

۴- ترشح آنتی‌بادی توسط پلاسماسل‌ها

۵- هیچ‌کدام

ت)ژن‌های زنجیره سبک کاپا و لامبدا

۱- بر روی یک کروموزوم واقع شده‌اند.

۲- تنها با یک نوع زنجیره سنگین ارتباط دارند.

۳- می‌تواند به صورت همزمان توسط یک سلولB بیان شوند.

۴- تمامی موارد فوق

www.bbooks.ir

۵- هیچ‌کدام

ث)در ایجاد تنوع اتصالی ایمونوگلبولین‌ها موارد ---------- دخالت دارند.

۱- برش و اتصال RNA

۲- بازآرایی DNA

۳- توالی‌های پیام نوترکیبی

۴- قانون اتصال یک طرفه/ دو طرفه

۵- جایگاههای سویچ

ج) یک سلول B هنگامی صلاحیت دار می‌شود که

۱- در پی بازآرایی محصول‌دار قطعات ژنی ناحیه متغیر زنجیره سنگین

۲- در پی بازآرایی محصول‌دار قطعات ژنی ناحیه متغیر زنجیره سبک

۳- در پی تغییر کلاس

۴- طی بلوغ میل ترکیبی

۵- در پی اتصال سایتوکاین‌های T_H به پذیرنده‌هایشان بر سطح سلول B

چ)مکانیسمی که منجر به تولید ایمونوگلبولین به اشکال ترشحی و غشایی می‌گردد کدام است

۱- انحصار آللی

۲- بیان هم غالب

۳- تغییر کلاس

۴- قانون اتصال یک طرفه / دو طرفه

۵- پردازش تمایزی RNA

www.bbooks.ir

۵- چه مکانیسم‌هایی، سه ناحیه فوق‌العاده متغیر (CDR) را در زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلبولین ایجاد می‌کنند؟ چرا سومین ناحیه فوق‌العاده متغیر (CDR3) از دو تای دیگر متغیرتر می‌باشد؟

۶- به شما یک رده سلولی میلومای کلون شده داده شده که IgG با فرمول مولکولی $\gamma 2\lambda 2$ ترشح می‌کند. هر دو زنجیره سبک و سنگین این رده سلولی توسط ژن‌های آلل ۱ کد می‌شوند. اشکالی را که هر یک از ژن‌های زیر می‌تواند در این رده سلولی رخ دهد را با نمادهای زیر مشخص کنید: G: شکل رده زایا، R: شکل بازآرایی شده محصول‌دار. NR: شکل بازآرایی شده فاقد محصول . دلیل انتخاب خود را بیان کنید:

الف. الل ۱ زنجیره سنگین
ب. آلل ۲ زنجیره سنگین
پ. الل ۱ زنجیره κ
ت. آلل ۱ زنجیره A
ث. آلل ۱ زنجیره λ
ج. آلل ۱ زنجیره λ

۷- شما یک رده سلولی لنفوم B دارید که برای هر دو آلل زنیجره سنگین، بازآرایی فاقد محصول صورت می‌دهد. بازآرایی زنجیره سبک DNA آن چیست؟ چرا؟

۸- مشخص کنید هر یک از تغییرات کلاس زیر قابل انجام می‌باشد (بله) یا نمی‌باشد(خیر).

a. IgM به IgD
b. IgM به IgA
c. IgE به IgM
d. IgA به IgG
e. IgM به IgG

۹- یک مزیت و یک اشکال افزودن نوکلئوتید N را هنگام بازآرایی قطعات ژنی زنجیره سنگین Ig را توضیح دهید.

۱۰- کریستالوگرافی اشعه x بسیاری از مولکول‌های آنتی‌بادی به آنتی‌ژن‌های متناظر خود، مشخص کرده که CDR3 هر دو زنجیره سبک و سنگین به اپی‌توپ اتصال

www.bbooks.ir

می‌یابند. علاوه بر آن،آنالیزهای توالی نیز مشخص کرده‌اند که تنوع CDR3 بیشتر از CDR1 و CDR2 می‌باشد. مکانیسمی که موجب تنوع بیشتر CDR3 می‌شود چیست؟

۱۱- تعداد شانس‌های یک سلول B در تولید یک ژن عملکردی زنجیره سبک ایمونوگلبولین چقدر است؟

۱۲- کلمات زیر را با توضیحات آورده شده (۱ تا ۱۱) مطابقت دهید. هر توضیح می‌تواند یک بار یا بیش از یک بار به کار رود یا اصلاً استفاده نشود.

الف)RAG و RAG2

ب)آنزیم‌های ترمیم شکستگی دو رشته (DSBR)

پ)اتصالات کد کننده

ت)RSSها

ث)نوکلئوتیدهای P

ج)نوکلئوتیدهای N

چ)پروموترها

ح)تشدید کننده‌ها

۱- اتصالات میان قطعات ژنی ایمونوگلبولین که حین بازآرایی ایجاد می‌شوند.

۲- منبع تنوعی زنجیره‌های سنگین آنتی‌بادی

۳- توالی‌های تنظیمی DNA

۴- توالی‌های محافظت شده DNA که در مجاورت قطعات V، D و J قرار گرفته‌اند و به بازآرایی مستقیم ژن‌ها کمک می‌کنند.

۵- آنزیم‌هایی که در Bهای در حال تکامل بارز می‌شوند.

۶- آنزیم‌هایی که در Bهای بالغ بیان می‌شوند.

www.bbooks.ir

۷- توالی نوکلئوتیدی که در نزدیکی هر قطعه رهبر در ژن ایمونوگلبولین واقع شده و RNA پلی‌مراز به آن متصل می‌شود.

۸- محصول حاصل از شکست ساختار سنجاق‌سری

۹- آنزیم‌هایی که در موش‌های SCID نقص دارند.

۱۰- توالی‌های نوکلئوتیدی که میزان نسخه‌برداری از ژن‌های بازآرایی شده ایمونوگلبولین را در مقایسه با DNA رده زایا به شدت افزایش می‌دهند.

۱۱- نوکلئوتیدهای اضافه شده توسط آنزیم TdT

۱۲- بسیاری از لنفوم‌های سلول B ، Ig سطحی را بر روی غشای پلاسمایی خود بیان می‌کنند. می‌توان این آنتی‌بادی لنفوم را جداسازی کرد و یک آنتی‌بادی منوکلونال ضد ایدیوتایپ موشی با ویژگی و میل ترکیبی بالا تولید کرد. چرا مراحلی باید طی شود تا این آنتی‌بادی منوکلونال موشی را بتوان در انسان مورد استفاده قرار داد؟ آیا این احتمال وجود دارد که این آنتی‌بادی مهندسی شده بتواند به صورت کلی برای بیماران مبتلا به لنفوم مفید باشد؟

۱۳- هر کدام از فعالیت‌های زیر در چه سطحی (DNA یا RNA) تعیین می‌شوند؟

الف)آنتی‌بادی غشایی در برابر ترشحی

ب)IgM در برابر IgD

پ)اتصال V-J

ت)IgA در برابر IgE

ث)اتصال V-D-J

۱۴- براساس پیش‌گویی ژنتیکی تمایل به تولید IgE، گرایش به آلرژیک شدن می‌تواند به ارث برسد. هر چند که آنتی‌ژنی که فرد به آن آلرژی دارد (آلرژن) به ارث نمی‌رسد. با توجه به چگونگی ایجاد ویژگی آنتی‌بادی، این تضاد آشکار را توضیح دهید.

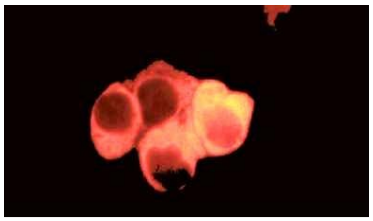
www.bbooks.ir

فصل ششم

برهمکنش‌های آنتی‌ژن–آنتی‌بادی

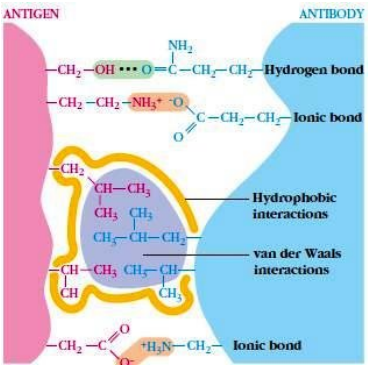
- قدرت برهمکنش میان آنتی‌ژن – آنتی‌بادی
- واکنش متقاطع
- تشدید پلاسمونی سطحی (SPR)
- واکنش‌های رسوبی
- واکنش‌های آگلوتیناسیون
- رادیوایمونواسی (RIA)
- آزمون جذب ایمنی همراه با آنزیم
- لکه‌گذاری وسترن
- رسوب ایمنی
- ایمونوفلورسانس
- فلوسایتومتری
- جایگزین‌هایی برای واکنش‌های آنتی‌ژن- آنتی بادی
- میکروسکوپ الکترونی ایمنی

www.bbooks.ir



- قدرت برهمکنش میان آنتی‌ژن-آنتی بادی

برهمکنش‌های غیرکووالان که اساس اتصال آنتی‌ژن-آنتی‌بادی می‌باشند، شامل پیوندهای هیدروژنی، یونی، آبگریز و واندروالس می‌باشد (شکل ۱-۶).



شکل ۱-۶: واکنش بین یک آنتی بادی و یک آنتی ژن به چهار نوع نیروی غیر کووالانسی وابسته می باشد که عبارتند از: ۱- نیروی اتصالات هیدروژنی که در آن یک اتم هیدروژن بین دو اتم الکترونگاتیو به اشتراک گذاشته می شود. ۲- نیروی اتصالات یونی بین بنیان های با بار مخالف ۳- برهمکنش های آبگریز که در آن گروه های آبگریز به هم نیرو وارد می کنند. ۴- برهمکنش های واندروالس بین ابرهای الکترونی بیرونی دو یا چند اتم

به دلیل این که این برهمکنش‌ها ضعیف هستند، شمار بسیار زیادی از چنین برهمکنش‌هایی برای تشکیل برهمکنش قوی آنتی‌ژن – آنتی‌بادی مورد نیاز می‌باشد. به هرحال، هر کدام از این برهمکنش‌های غیرکووالانسی در فواصل بسیار کوتاه عمل می‌کنند، معمولاً در حدود ۱×۱۰^{-۷} میلی‌متر، در نتیجه یک برهمکنش قوی آنتی‌ژن-آنتی‌بادی به

www.bbooks.ir

مجاورت مناسب آنتی‌ژن و آنتی‌بادی بستگی دارد. چنین مجاورتی نیازمند درجه بالایی از مکملی بین آنتی‌ژن و آنتی‌بادی می‌باشد، شرطی که زمینه‌ساز ویژگی دقیق آنها و از مشخصه‌های برهمکنش آنتی‌ژن – آنتی‌بادی می‌باشد.

- میل پیوندی آنتی‌بادی، سنجش کمی قدرت اتصال می‌باشد

مجموعه قدرت برهمکنش‌های غیر کووالان میان یک جایگاه اتصال آنتی‌ژن روی یک آنتی‌بادی و تنها یک اپی‌توپ، میل پیوندی آنتی‌بادی برای آن اپی‌توپ می‌باشد. آنتی‌بادی‌های با میل پیوندی پایین به طور ضعیفی به آنتی‌ژن متصل شده و به آسانی جدا می‌شوند، در حالی که آنتی‌بادی‌های با میل پیوندی بالا بسیار محکم‌تر به آنتی‌ژن متصل شده و این اتصال دوام بیشتری دارد. پیوند میان یک جایگه اتصال Ab با یک Ag تک ظرفیتی را می‌توان توسط تعادل زیر نشان داد:

$$Ag\text{-}Ab \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} Ag + Ab$$

که در اینجا K_1 ثابت تشکیل و K_{-1} ثابت تفکیک می‌باشد. در بیوشیمی، نسبت K_1/K_{-1} ثابت تشکیل یا درجه میل پیوندی (K_a) می‌باشد. در ایمونولوژی، K_a **ثابت میل پیوندی**[1] نامیده می‌شود. به دلیل این که K_a ثابت تعادل برای برهمکنش جایگاه اتصال آنتی‌بادی با آنتی‌ژن می‌باشد و از آنجایی که غلظت مولی یک جایگاه اتصال برابر با غلظت آنتی‌بادی می‌باشد، K_a می‌تواند از نسبت غلظت مولی آنتی‌ژن- آنتی‌بادی به غلظت مولی آنتی‌ژن و آنتی‌بادی متصل نشده در تعادل، محاسبه شود.

$$K_a = \frac{[Ag-Ab]}{[Ag][Ab]}$$

میزان K_a برای مجموعه‌های آنتی‌ژن-آنتی‌بادی متفاوت، متغیر می‌باشد و وابسته به هر دو K_1 با واحد (L/mol/s) و K_{-1} با واحد (۱/S) می‌باشد. برای هاپتن‌های کوچک، ثابت تشکیل K_1 می‌تواند بسیار بالا باشد، در برخی موارد به اندازه

1- affinity constant

www.bbooks.ir

L/mol/s ۴×۱۰^{-۸} که نزدیک به بالاترین حد تئوری واکنش‌های انتشار (L/mol/s $۱۰^{۹}$) می‌باشد. با این حال برای آنتی‌ژن‌های پروتئینی بزرگتر، K_1 کوچکتر و در محدوده‌ای به میزان L/mol/s $۱۰^{۵}$ می‌باشد.

سرعت جدایی آنتی‌ژن پیوند یافته از جایگاه اتصال Ab، شاخص عمده میل پیوندی Ab برای Ag می‌باشد.

TABLE 6-1 Forward and reverse rate constants (k_1 and k_{-1}) and association and dissociation constants (K_a and K_d) for three ligand-antibody interactions

Antibody	Ligand	k_1	k_{-1}	K_a	K_d
Anti-DNP	ε-DNP-L-lysine	8×10^7	1	1×10^8	1×10^{-8}
Anti-fluorescein	Fluorescein	4×10^8	5×10^{-3}	1×10^{11}	1×10^{-11}
Anti-bovine serum albumin (BSA)	Dansyl-BSA	3×10^5	2×10^{-3}	1.7×10^8	5.9×10^{-9}

SOURCE: Adapted from H. N. Eisen, 1990, *Immunology*, 3rd ed., Harper & Row Publishers.

جدول ۱-۶ نقش K_{-1} در تعیین ثابت تشکیل K_a برای چندین برهمکنش Ag-Ab را نشان می‌دهد. برای برخی اهداف، تجزیه مجموعه آنتی‌ژن- آنتی‌بادی مدنظر می‌باشد:

$$Ag\text{-}Ab \longleftrightarrow Ag + Ab$$

ثابت تعادل برای این واکنش تفکیک (K_d، ثابت تفکیک) برابر با معکوس K_a می‌باشد:

$$Kd = \frac{[Ag][Ab]}{[Ag_Ag]} = \frac{۱}{K_a}$$

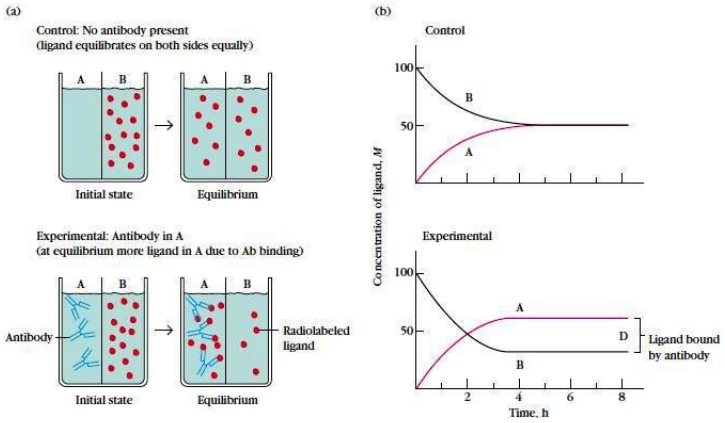
مجموعه‌های بسیار پایدار، میزان K_d بسیار پایینی داشته و مجموعه‌های ناپایدار، میزان K_d بالایی دارند. هر چند که Kd ثابت میل پیوندی نیست ولی ثابت میل پیوندی (K_a) را می‌توان به راحتی از روی K_d محاسبه نمود:

$K_a = \frac{۱}{K_d}$ پیش از این، ثابت میل پیوندی بوسیله **دیالیز تعادلی**[1] تعیین می‌شد، اما امروزه بوسیله روش‌های جدیدی به خصوص تشدید پلاسمونی سطحی (SPR) تعیین می‌گردد. به دلیل این که دیالیز تعادلی دارای اصول مهمی می‌باشد و هنوز برای برخی ایمونولوژیست‌ها

1- equilibrium dialysis

www.bbooks.ir

به عنوان استانداردی برای ارزیابی سایر روش‌ها محسوب می‌گردد، در اینجا، آن را توصیف می‌کنیم. این فرآیند با استفاده از یک محفظه دیالیز انجام می‌شود. آنتی‌بادی در یک قسمت و لیگاند نشاندار شده با رادیواکتیو در قسمت دیگری قرار می‌گیرد (شکل ۲-۶).



شکل ۲-۶: تعیین میل پیوندی آنتی بادی توسط دیالیز تعادلی. (a) یک اتاقک دیالیز دارای دو جزء A و B می باشد که توسط یک غشای نیمه تراوا از یکدیگر جدا شده اند. آنتی بادی به یک جزء اضافه شده و لیگاند نشاندار شده با رادیواکتیو به جزء دیگر اضافه می شود. در حالت تعادل، شدت خاصیت رادیواکتیو در هر دو جزء اندازه گیری می شود. (b) طرح غلظت لیگاند در هر جزء بر حسب زمان. در حالت تعادل، اختلاف در غلظت لیگاند رادیواکتیو در دو جزء نشانه ی مقدار اتصال لیگاند به آنتی بادی می باشد.

لیگاندهای مناسب شامل هاپتن‌ها، اولیگوساکاریدها و اولیگوپپتیدها می‌باشند. در غیاب آنتی‌بادی، لیگاند اضافه شده به بخش B در هر دو سمت غشا به تعادل می‌رسد (شکل ۲a-۶).

با این حال در حضور آنتی بادی، قسمتی از لیگاندهای نشاندار در حالت تعادل متصل به آنتی‌بادی باقی می‌مانند، در حالی که لیگاندهای اتصال نیافته به طور مساوی در دو سمت غشا پخش می‌شوند. بنابراین، غلظت نهایی لیگاندها در بخشی که آنتی‌بادی حضور دارد بیشتر می‌شود (شکل ۲b-۶). تفاوت غلظت لیگاند در دو بخش، نشان‌دهنده غلظت لیگاند

www.bbooks.ir

اتصال یافته به آنتی‌بادی می‌باشد. آنتی‌بادی با میل پیوندی بالاتر باعث اتصال بیشتر لیگاندها می‌شود. از آنجایی که غلظت آنتی‌بادی در محفظه دیالیز تعادلی مشخص می‌باشد، غلظت مجموعه Ag-Ab را می‌توان بوسیله $\frac{[Ag_Ab]}{n}$ تعیین نمود؛n تعداد جایگاه اتصال در مولکول آنتی‌بادی می‌باشد. ثابت تعادل یا ثابت میل پیوندی K_a برای یک جایگاه اتصال به صورت زیر می‌باشد:

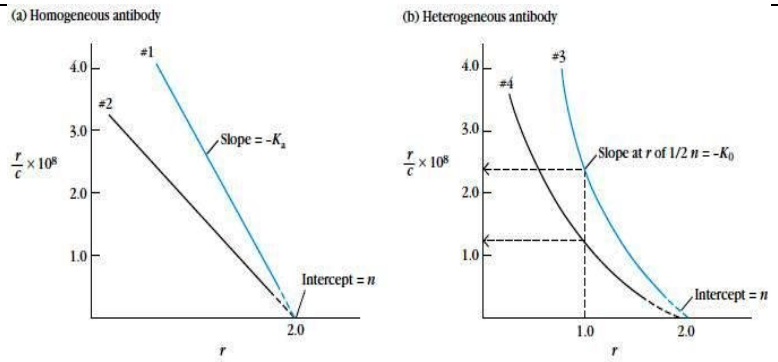
$$K_a = [Ab\text{-}ag]/[Ag][Ab] = \frac{r}{c(n_r)}$$

که در اینجا r برابر با نسبت غلظت لیگاند پیوند یافته به غلظت کل آنتی‌بادی می‌باشد، c غلظت لیگاند آزاد و n تعداد جایگاههای اتصال در مولکول Ab می‌باشد. این عبارت را می‌توان به گونه‌ای بازچینی نمود تا **تعادل اسکچارد**[1] حاصل شود: $\frac{r}{c} = K_a n - k_a r$

بیشتر نمونه‌های آنتی‌بادی، پلی کلونال می‌باشند. نمودار اسکچارد آنتی‌بادی ناهمگن، منحنی را به وجود می‌آورد که شیب آن به طور ثابت تغییر می‌کند که نشان از ناهمگنی آنتی‌بادی می‌باشد (شکل ۳b-۶).

1- scatchard equation

www.bbooks.ir



شکل ۳-۶: طرح های ترسیمی در این شکل بر حسب آنالیز تعادلی با غلظت ثابت آنتی بادی و غلظت های مختلف لیگاند می باشد. در این نمودارها r برابر است با مول های لیگاند متصل شده نسبت به مول آنتی بادی و c برابر است با غلظت لیگاند آزاد. در این نمودارها هر دو میزان ثابت تعادل (Ka) و تعداد جایگاه های اتصال Ab (n) یا ظرفیت آن را می توان به دست آورد. (a) در صورتی که تمام آنتی بادی ها میل پیوندی یکسانی داشته باشند طرح ترسیمی به صورت مستقیم یا شیب خط برابر با Ka – می باشد. برای IgM که پنتامر می باشد، n=10 و برای IgA دایمر برابر با ۴ خواهد بود. در این میکروگراف، آنتی بادی #1 میل پیوندی بیشتری نسبت به #2 دارد. (b) در صورتی که تهیه آنتی بادی به صورت پلی کلونال بوده و میل پیوندی بیشتری داشته باشد، خط نمودار به صورت خمیده یا منحنی می باشد. میل پیوندی متوسط K_0 را می توان با تعیین مقدار K_A زمانی که نصف جایگاه ها متصل می باشند، به دست آورد. در این گراف آنتی سرم #3 میل پیوندی بیشتری($K_0=2.4*10^8$) نسبت به #4 ($K_0=1.25*10^8$) دارد.

با یک چنین نمودار اسکچاردی، امکان تعیین میانگین ثابت میل پیوندی (K_o) بوسیله تعیین میزان K_a وقتی نصف جایگاههای اتصال به آنتی‌ژن پر شده باشند، وجود دارد. این امر به سهولت با تعیین شیب منحنی در نقطه‌ای که نصف جایگاههای اتصال به آنتی‌ژن در آن پر شده‌اند، قابل انجام می‌باشد.

- میل پیوندی تام آنتی‌بادی، مجموع میل پیوندی چندین جایگاه اتصال می‌باشد

میل پیوندی یک جایگاه اتصال همیشه مشخص کننده قدرت حقیقی برهمکنش آنتی‌ژن-آنتی‌بادی نمی‌باشد. وقتی آنتی‌ژن‌های پیچیده حاوی چندین شاخص آنتی‌ژنی تکراری با

www.bbooks.ir

آنتی‌بادی‌های دارای چندین جایگاه اتصال مخلوط شوند، برهمکنش یک مولکول آنتی‌بادی با یک مولکول آنتی‌ژن در یک جایگاه، شانس برهمکنش بین دو مولکول از آنها در جایگاه دوم را افزایش خواهد داد. قدرت چنین برهمکنش‌های چندگانه‌ای میان آنتی‌ژن و آنتی‌بادی چند ظرفیتی، **میل پیوندی تام**[1] خوانده می‌شود. میل پیوندی تام، معیار سنجش بهتری از میل پیوندی برای کمی نمودن ظرفیت اتصال یک آنتی‌بادی در سیستم‌های زیستی می‌باشد. تحت شرایط ایده‌آل، میل پیوندی تام باید حاصلضرب میل‌های پیوندی جایگاههای اتصال یک آنتی‌بادی باشد. برای یک مولکول IgG که دو جایگاه اتصال با میل پیوندی یکسان دارد، میل پیوندی تام تحت شرایط ایده‌آل برابر خواهد بود با :

$$\text{Avidity} = K_a \times K_a = (K_a)^2 = \text{Keq} = \frac{[Ab_Ag]}{[Ab][Ag]}$$

- واکنش متقاطع

اگر چه واکنش‌های Ag-Ab بسیار اختصاصی می‌باشند ولی در برخی موارد،آنتی‌بادی ایجاد شده توسط یک آنتی‌ژن ممکن است با آنتی‌ژنی نا مرتبط واکش متقاطع بدهد. اگر دو آنتی‌ژن متفاوت، دارای اپی‌توپ مشابه یا بسیار شبیه هم باشند، چنین واکنش متقاطعی رخ می دهد. واکنش متقاطع اغلب در بین آنتی‌ژن‌های پلی‌ساکاریدی که حاوی بنیان‌های اولیگوساکاریدی مشابه هستند مشاهده می‌گردد. برای مثال، **آنتی‌ژن‌های گروه خونی ABO**[2]، گلیکولیپیدهایی هستند که روی سلول‌های قرمز خونی عرضه می‌شوند. تفاوت‌های جزئی در بنیان‌های انتهایی قندهای متصل به این گلیوکولیپیدهای سطحی، آنتی‌ژن‌های گروه خونی A و B را از هم متمایز می‌کند. اگر چه مکانیسم‌های تحمل ایمنی از تشکیل آنتی‌بادی‌ها برضد گروه خونی خود شخص جلوگیری می‌کنند، شخص فاقد یک یا هر دوی

1- avidity
2- ABO blood-group antigens

www.bbooks.ir

این آنتی‌ژن‌ها، برعلیه آنتی‌ژنی که فاقد آن می‌باشد، آنتی‌بادی سرمی خواهد داشت؛ که در نتیجه مواجهه با آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز القا نمی‌شوند بلکه توسط برخورد با آنتی‌ژن‌های میکربی موجود روی باکتری‌های شایع روده‌ای القا می‌شوند. برعلیه این آنتی‌ژن‌های میکربی آنتی‌بادی تشکیل می‌شود. آنتی‌بادی‌های گروه خونی، اگر چه توسط آنتی‌ژن‌های میکربی ایجاد شده‌اند ولی با اولیگوساکاریدهای مشابه روی گلبول‌های قرمز بیگانه واکنش متقاطع خواهند داد؛ و این امر اساس آزمون‌های تعیین گروه خون می‌باشد و برای تعیین خون سازگار طی انتقال خون ضروری می‌باشد. یک شخص با گروه خونی A دارای آنتی‌بادی‌های ضد B می‌باشد. شخص با گروه خونی B، آنتی‌بادی ضد A و شخص با گروه خونی O دارای آنتی‌بادی‌های ضد A و ضد B می‌باشد (جدول ۲-۶).

TABLE 6-2 ABO blood types

Blood type	Antigens on RBCs	Serum antibodies
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A and B	Neither
O	Neither	Anti-A and anti-B

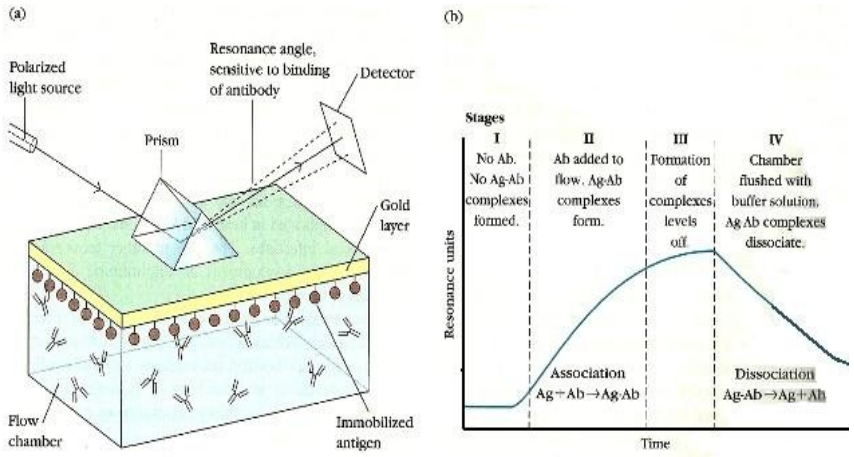
شماری از ویروس‌ها و باکتری‌ها دارای شاخص‌های آنتی‌ژنی یکسان یا مشابه با ترکیبات سلول طبیعی میزبان می‌باشند. برای مثال، باکتری استرپتوکوک‌پیوژن، پروتئین‌های دیواره سلولی با نام آنتی‌ژن‌های M را عرضه می‌کند. نشان داده شده که آنتی‌بادی‌های تولید شده ضد این پروتئین‌ها با چندین پروتئین عضله قلبی و عضله اسکلتی واکنش متقاطع داده و در صدمه به قلب و کلیه پس از عفونت‌های استروپتوکوکی نقش دارند. نقش سایر آنتی‌ژن‌ها با واکنش متقاطع در ایجاد بیماری‌های خود ایمنی در فصل ۱۶ بحث می‌شود.

برخی واکسن‌ها نیز واکنش متقاطع نشان می‌دهند. برای نمونه، ویروس واکسینیا، اپی‌توپ‌هایی عرضه می‌کند که با ویروس واریولا واکنش متقاطع می‌دهند و این واکنش متقاطع اساس روش جنر در به‌کارگیری از ویروس واکسینیا جهت القای ایمنی علیه آبله بود.

www.bbooks.ir

- تشدید پلاسمونی سطحی (SPR)

روش‌های دیالیز تعادلی برای سنجش میل پیوندی آنتی‌بادی، از اواسط دهه ۱۹۹۰ با **تشدید پلاسمونی سطحی**[1] (SPR) که بسیار حساس‌تر، آسان تر و سریع تر می‌باشد، جایگزین شدند (شکل ۴-۶).



شکل ۴-۶: رزونانس پلاسمون سطحی (SPR)

(a)یک محلول بافر حاوی آنتی بادی از یک محفظه عبور داده می شود که این محفظه دارای دیواره پوشیده از یک لایه آنتی ژن غیرمتحرک می باشد. تشکیل مجموعه Ag-Ab بر روی این لایه موجب تغییر زاویه رزونانس پرتو نور پلاریزه می شود. یک آشکارساز حساس، تغییرات زاویه رزونانس را به صورت اشکال مجموعه های Ag-Ab ثبت می کند. (b) تفسیر سنسوگرام. در طرح آشکارساز رزونانس چهار مرحله وجود دارد که بر حسب زمان می باشد. مرحله ۱: بافر از محفظه عبور داده می شود و هیچ مجموعه Ag-Ab وجود ندارد. مرحله ۲: آنتی بادی وارد جریان شده و مجموعه های Ag-Ab شکل می گیرند. مرحله ۳: هنگامی که تمام جایگاه ها بتوانند به آنتی بادی موجود متصل شوند، منحنی ها کامل می شوند. ارتفاع این منحنی ها مستقیماً با غلظت آنتی بادی متناسب می باشند. مرحله ۴: سلولی که در محفظه می باشد با بافر فاقد آنتی بادی و مجموعه های Ag-Ab مواجه می شود. میزان اتصال متناسب با شیب منحنی مربوطه می باشد.

علاوه بر امکان تعیین میزان ثابت‌های میل پیوندی، SPR را می‌توان برای تعیین سرعت واکنش‌های Ag-Ab نیز استفاده نمود و حتی می‌توان برای سنجش غلظت آنتی بادی به

1- surface plasmon resonance (SPR)

www.bbooks.ir

کار برد. اساس کار SPR بر پایه تغییرات خصوصیات انعکاس سطح یک حسگر پوشیده با آنتی‌ژن زمانی که به آنتی بادی متصل می‌گردد، استوار می‌باشد. اگر چه اساس فیزیکی SPR بسیار تخصصی می‌باشد، اما این روش، آسان و خلاقانه می‌باشد. یک پرتو نور پلاریزه از طریق یک منشور به سمت یک لایه طلای نازک که سمت مقابل آن با آنتی‌ژن پوشیده شده است، هدایت می‌شود و از لایه طلا به سمت یک حسگر جمع کننده نور بازتابیده می‌شود. با این وجود در یک زاویه منحصر به فرد، برخی پرتوهای نور توسط لایه طلا جذب شده و انرژی آن به صورت موج‌های بارداری که پلاسمون‌های سطحی نامیده می‌شوند، تغییر شکل می‌یابد. شیب تند شدت نور منعکس شده را می‌توان در زاویه‌ای به نام زاویه تشدید سنجش نمود. زاویه، به رنگ نور، ضخامت و رسانایی لایه فلزی و خصوصیات اپتیکی ماده احاطه کننده سطوح لایه طلا بستگی دارد. روشSPR از این عوامل استفاده می‌کند: اتصال آنتی‌بادی‌ها به آنتی‌ژن متصل به تراشه دارای اثر فوق برای ایجاد یک تغییر قابل سنجش در زاویه تشدید می‌باشد. این تغییر، متناسب با تعداد آنتی‌بادی‌های پیوند یافته می‌باشد. با سنجش تغییر سرعت زاویه تشدید در طی واکنش Ab-Ag، سرعت این واکنش را می‌توان اندازه‌گیری کرد (شکل ۴-۶). به طور عملی این امر به واسطه عبور یک محلول آنتی‌بادی با غلظت مشخص از روی تراشه پوشیده شده با آنتی‌ژن انجام می‌گیرد. نمودار سنجش تغییرات برحسب زمان در یک آزمون SPR، سنسوگرام نامیده می‌شود. در طی واکنش Ag-Ab نمودار سنسوگرام بالا می‌رود تا همه جایگاههای قادر به اتصال به Ab اشغال شوند. پس از آن سنسوگرام مسطح می‌شود. داده‌های این سنجش را می‌توان برای محاسبه K1 به کار برد: $Ab+Ag \xrightarrow[K_1]{} Ag\text{-}Ab$

زمانی که به حالت مسطح رسید، محلولی فاقد آنتی‌بادی از داخل محفظه عبور داده می‌شود. تحت این شرایط مجموعه‌های Ab-Ag تجزیه می‌شوند و محاسبه ثابت تفکیک

www.bbooks.ir

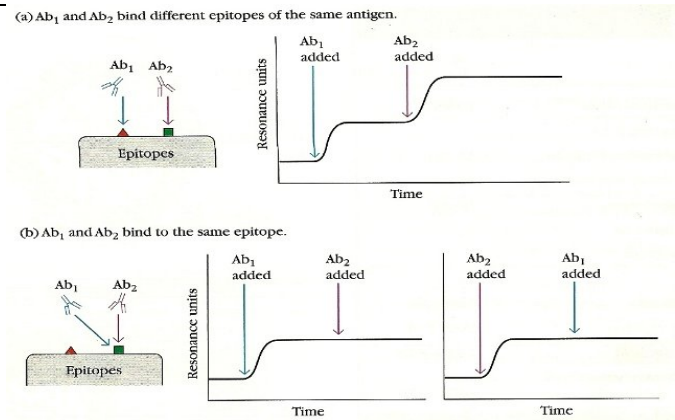
(K_2) امکان پذیر می‌گردد. از آنجایی که $K_a=\frac{K_1}{K_2}$ می‌باشد، با سنجش K_1 و K_2 مـی‌تـوان ثابت میل پیوندی (K_a) را محاسبه نمود.

همچنین تشدید پلاسمونی سطحی را می‌توان برای سنجش غلظت آنتی‌بادی در یک نمونه به کار برد. میزان مجموعه‌های Ab-Ag تشکیل شده روی تراشه توسط ارتفـاع سنسـوگرام نشان داده می‌شود و این مقدار مستقیماً متناسب با میزان آنتی‌بادی موجود در محلول عبـور کننده از محفظه می‌باشد به وسیله مقایسه با داده‌های مرجع، غلظت آنتی‌بـادی را مـی‌تـوان تعیین نمود.

- SPR را می‌توان برای شناسایی ویژگی اپی‌توپ مجموعه‌ای از آنتی‌بادی‌ها به کار برد

SPR به غیر از سنجش میل پیوندی و غلظت آنتی‌بادی‌ها، کاربردهای دیگـری نیـز دارد. فرض کنید نمونه‌ای حاوی دو آنتی‌بادی منوکلونال متفاوت بر ضد آنتی‌ژنـی ماننـد gp12o در اختیار دارد. آیا این آنتی‌بادی‌ها به اپی‌توپ‌های مشابه یا متفاوت بـر روی ایـن پـروتئین کلیدی متصل می‌شوند؟ SPR راهکار توانمندی برای پاسخ‌گویی به این پرسـش مـی‌باشـد. آنتی‌بادی‌هایی که به اپی‌توپ‌هـای متفـاوت روی یـک آنتـی‌ژن متصـل مـی‌شـوند، نمـودار سنسوگرام خاصی را نشان می‌دهند (شکل ۵-۶). آنتی‌بادی‌هایی که به اپی‌توپ‌هـای مشـابه متصل می‌شوند با یکدیگر برای جایگاههای اتصال رقابت کـرده و هـر کـدام از ایـن اتصـال دیگری جلوگیری می‌کنند (شکل ۵-۶).

www.bbooks.ir



شکل ۵-۶: SPR را می توان جهت تعیین تفاوت اتصال آنتی بادی به اپی توپ های مختلف یا یکسان استفاده کرد. (a) Ab1 و Ab2 اپی توپ های مختلفی را بر روی آنتی ژن شناسایی می کنند. تزریق اولیه Ab1 موجب افزایش ارتفاع منحنی می گردد. افزودن Ab2 پس از این مرحله موجب افزایش ارتفاع منحنی می گردد و این نشان می دهد که Ab1 و Ab2 با اپی توپ های مختلفی از یک پروتئین که نسبتاً از هم فاصله دارند، واکنش می دهند. (b) Ab1 و Ab2 یک نوع اپی توپ را بر روی آنتی ژن شناسایی می کنند. در اولین سنسوگرام، افزودن Ab1 موجب یک پاسخ می شود و تزریق بعدی Ab2 هیچ پاسخی ایجاد نمی کند. در سنسوگرام دوم، Ab2 ابتدا موجب پیدایش یک پاسخ می گردد اما افزودن Ab1 هیچ پاسخ دیگری در بر ندارد. در این الگو، هر دو آنتی بادی اپی توپ مشابهی را بر روی آنتی ژن شناسایی می کنند و اتصال یکی از آنها مانع از اتصال دیگری به اپی توپ می شود.

با تغییراتی در این فرآیند، می‌توان با استفاده از سنتز شیمیایی یا هیدرولیز آنزیماتیک، مجموعه‌ای از قطعات آنتی‌ژنی را تولید نمود و سپس هر کدام از این قطعات را روی یک تراشه ثابت کرد. با فرض این که ساختار سه بعدی قطعات آنتی‌ژنی همانند آنتی‌ژن طبیعی باشد، می‌توان واکنش‌پذیری آنتی‌بادی‌ها را تعیین نمود و جایگاه اپی‌توپ‌ها روی مولکول آنتی‌ژن اصلی را می‌توان مشخص کرد. فرآیندی که **نقشه‌برداری اپی‌توپی**[1] نامیده می‌شود.

1- epitope mapping

www.bbooks.ir

- واکنش‌های رسوبی

میانکنش آنتی‌بادی و آنتی‌ژن محلول در یک محلول آبی، شبکه هایی را تشکیل می‌دهند که در نهایت منجر به تولید رسوب قابل مشاهده می‌گردد. آنتی‌بادی‌هایی که سبب تجمع آنتی‌ژن‌های محلول می‌گردند، **پرسی‌پیتین**[1] نامیده می‌شوند. اگر چه تشکیل مجموعه محلول Ag-Ab در عرض چند دقیقه رخ می‌دهد ولی تشکیل رسوب قابل مشاهده، آهسته‌تر بوده و یک تا دو روز زمان می‌برد. تشکیل شبکه Ag-Ab به ظرفیت Agو Ab بستگی دارد.

- آنتی‌بادی باید دو ظرفیتی باشد؛ با قطعه Fab تک ظرفیتی رسوب تشکیل نخواهد شد.
- آنتی‌ژن باید دو یا چند ظرفیتی باشد؛ بدین معنی که آنتی‌ژن باید حداقل دو نسخه از یک اپی‌توپ مشابه داشته باشد یا اپی‌توپ‌های متفاوتی داشته باشد که با آنتی‌بادی‌های متفاوت موجود در سرم واکنش دهند.

اگرچه انواع گوناگونی از این واکنش‌های رسوبی زمانی اساس تمام آزمون‌های ایمنی بودند، اما امروزه بوسیله روش‌های سریع تر جایگزین شده‌اند و بدلیل این که بسیار حساس می‌باشند، تنها به میزان اندک آنتی‌ژن و آنتی‌بادی نیاز دارند. همچنین، آزمون‌های جدید، محدود به تشکیل رسوب ناشی از واکنش Ag-Ab نمی‌باشند. جدول ۳-۶ مقایسه‌ای از حساسیت تعدادی از آزمون‌های ایمنی را نشان می‌دهد.

1- percipitin

www.bbooks.ir

TABLE 6-3 Sensitivity of various immunoassays

Assay	Sensitivity* (μg antibody/ml)
Precipitation reaction in fluids	20–200
Precipitation reactions in gels	
Mancini radial immunodiffusion	10–50
Ouchterlony double immunodiffusion	20–200
Immunoelectrophoresis	20–200
Rocket electrophoresis	2
Agglutination reactions	
Direct	0.3
Passive agglutination	0.006–0.06
Agglutination inhibition	0.006–0.06
Radioimmunoassay	0.0006–0.006
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	<0.0001–0.01
ELISA using chemiluminescence	<0.0001–0.01†
Immunofluorescence	1.0
Flow cytometry	0.06–0.006

*The sensitivity depends upon the affinity of the antibody as well as the epitope density and distribution.

†Note that the sensitivity of chemiluminescence-based ELISA assays can be made to match that of RIA.

SOURCE: Adapted from N. R. Rose et al., eds., 1997, *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 5th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C.

- واکنش‌های رسوبی در ژل،خطوط رسوبی قابل مشاهده ایجاد می‌کنند

رسوب ایمنی نه تنها در یک محلول بلکه در یک شبکه آگار نیز قابل تشکیل می‌باشد. زمانی که Ag و Ab در محیط آگار به سمت یکدیگر انتشار می‌یابند یا زمانی که آنتی‌بادی به محیط آگار اضافه می‌شود و آنتی‌ژن در شبکه حاوی آنتی‌بادی انتشار می‌یابند، خطوط رسوبی قابل مشاهده شکل خواهند گرفت.

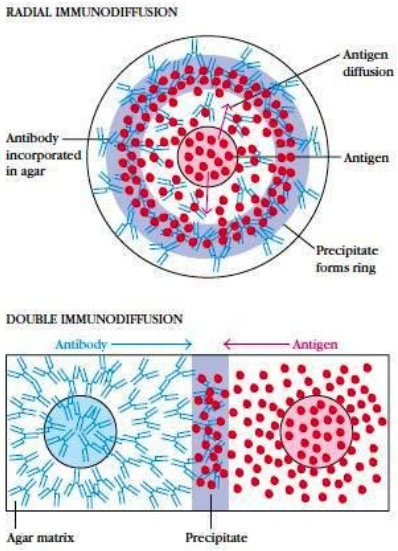
دو نوع واکنش انتشار ایمنی برای تعیین غلظت نسبی آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی، برای مقایسه آنتی‌ژن‌ها، یا تعیین نسبی خلوص محلول آنتی‌ژنی استفاده می‌گردند.

www.bbooks.ir

آنها **انتشار ایمنی شعاعی**[1] (روش مانسینی) و **انتشـار ایمنـی مضـاعف**[2](روش اخترلـونی) می‌باشند؛ هر دوی آنها در محیط‌های نیمه جامدی مثل آگار انجام می‌شوند. در انتشار ایمنی شعاعی، یک نمونه آنتی‌ژنی در یک چاهک قرار داده می شود و امکانی فراهم می‌آیـد تـا در آگار حاوی یک رقت مناسب از آنتی‌سرم انتشار یابد. همچنان که آنتی‌ژن در آگـار انتشـار می‌یابد، ناحیه تعادل ظرفیتی ایجاد شده و حلقه ای رسوبی تشکیل می‌گردد کـه دور تـا دور چاهک را فرا می‌گیرد (شکل ۶-۶). ناحیه حلقه رسوبی متناسب با غلظت آنتی‌ژن می‌باشد. با مقایسه ناحیه حلقوی رسوبی با منحنی استاندارد، غلظت آنتی‌ژن نمونـه را مـی‌تـوان تعیـین نمود.در روش اخترلونی، آنتی‌ژن و آنتی‌بادی هـر دو از چاهـک‌هـای متفـاوت بـه صـورت شعاعی به سمت یکدیگر انتشار می‌یابند و در نتیجه گرادیان غلظتی در ژل ایجاد می‌گـردد. زمانی که تعادل ظرفیتی فرا می‌رسد، یک خط رسوبی قابل مشاهده تشکیل می‌گـردد(شـکل ۶-۶).

1- radial immunodiffusion
2- doulde immunodiffusion

www.bbooks.ir



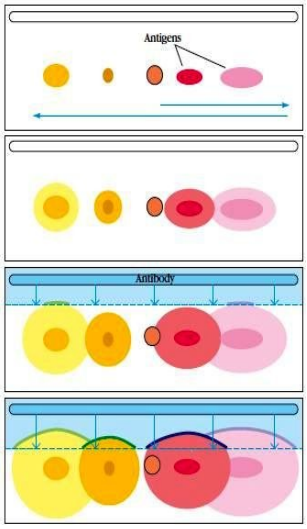
شکل ۶-۶: دیاگرامی از انتشار ایمنی شعاعی و انتشار ایمنی مضاعف در یک ژل. در هر دو مورد، مجموعه های نامحلول بزرگ در آگار در نقطه تعادل شکل می گیرند که به صورت نقاط رسوبی مشخص می شوند. در انتشار ایمنی شعاعی تنها آنتی ژن منتشر می شود، در حالی که در انتشار ایمنی مضاعف، هم آنتی ژن و هم آنتی بادی منتشر می شوند.

- ایمونوالکتروفورز، ترکیبی از الکتروفورز و انتشار ایمنی مضاعف

در ایمونوالکتروفورز[1]، مخلوط آنتی‌ژنی ابتدا با استفاده از الکتروفورز و براساس بار الکتریکی به اجزای تشکیل دهنده‌اش تفکیک می‌شود. با بریدن ژل، شیاری موازی با جهت میدان الکتریکی بر روی آن ایجاد کرده و آنتی‌سرم را به این شیار اضافه می‌کنیم. سپس آنتی‌بادی و آنتی‌ژن به سمت یکدیگر انتشار یافته و در نسبت مناسب، خطوط رسوبی تشکیل می‌شوند (شکل ۷-۶).

1- immunoelectrophoresis

www.bbooks.ir



شکل ۷-۶: ایمونوالکتروفورز یک مخلوط آنتی ژنی. ابتدا یک مخلوط آنتی ژنی الکتروفورز شده و اجزای آنتی ژن بر مبنای بار الکتریکی از یکدیگر جدا می شوند. آنتی سرم به آنتی ژن های مجزا اضافه شده و اجازه داده می شود تا منتشر شوند. سپس خطوط رسوبی ایجاد می شوند.

ایمونوالکتروفورز در آزمایشگاههای تشخیص طبی برای تعیین حضور یا عدم حضور پروتئین خاصی در سرم مورد استفاده قرار می‌گیرد. نمونه سرم، الکتروفورز می‌گردد و اجزای اختصاصی سرم با آنتی‌سرم اختصاصی برای پروتئین یا کلاس ایمونوگلبولین مورد نظر، مشخص می‌گردند. این روش برای تشخیص مشکل بیمار در تولید یک یا چند ایزوتایپ، مفید می‌باشد.

این روش همچنین می‌تواند نشان دهد که آیا یک بیمار برخی از پروتئین‌های سرمی مانند آلبومین، ایمونوگلبولین یا ترانسفرین را بیش از نیاز تولید می‌کند یا خیر. الگوی الکتروفورزی سرم بیماران مبتلا به مولتیپل میلوما، میزان زیادی از پروتئین میلوما را نشان می‌دهد.. به دلیل این که ایمونوالکتروفورز یک روش کاملاً کیفی می‌باشد که تنها غلظت‌های نسبتاً بالای آنتی‌بادی را شناسایی می‌کند، کاربرد آن محدود به شناسایی ناهنجاری‌ها به صورت کیفی می‌باشد.

www.bbooks.ir

یک روش کمی به نام **الکتروفورز راکتی**[1]، سنجش میزان آنتی‌ژن را امکان‌پذیر می‌سازد. در الکتروفورز راکتی، آنتی‌ژن که به طور منفی باردار شده روی ژل حاوی آنتی‌بادی، الکتروفورز می‌گردد. رسوب تشکیل شده میان آنتی‌ژن و آنتی‌بادی شکلی شبیه راکت دارد،که ارتفاع آن متناسب با غلظت آنتی‌ژن درون چاهک می‌باشد. برای حرکت الکتروفورزی از میان شبکه آگار، لازمست که آنتی‌ژن به طور منفی باردار شود و این امر یکی از محدودیت‌های الکتروفورز راکتی می‌باشد. برای نمونه، برخی پروتئین‌ها (ایمونوگلبولین‌ها) بار کافی ندارند تا توسط الکتروفورز راکتی مورد تحلیل کمی قرار گیرند، همچنین سنجش چندین آنتی‌ژن را به طور همزمان در یک مخلوط امکان‌پذیر نمی‌باشد.

- واکنش‌های آگلوتیناسیون

برهمکنش میان آنتی‌بادی و یک آنتی‌ژن ذره‌ای، منجر به تشکیل توده‌ای قابل مشاهده به نام **آگلوتیناسیون**[2] می‌شود. آنتی‌بادی‌هایی که چنین واکنش‌هایی را بوجود می‌آورند، آگلوتینین نامیده می‌شوند. اساس واکنش‌های آگلوتیناسیون شبیه پرسی‌پیتاسیون بوده و بر پایه اتصال متقاطع بین آنتی‌ژن‌های چند ظرفیتی استوار می‌باشند. همان‌گونه که فزونی آنتی‌بادی مانع واکنش‌های پرسی‌پیتاسیون می‌شود، چنین فزونی نیز می‌تواند مانع از واکنش‌های آگلوتیناسیون گردد. این ممانعت، **اثر پروزون**[3] نامیده می‌شود. به دلیل این که اثر پروزون در بسیاری از آزمون‌های ایمنی اختلال ایجاد می‌کند، شناخت اساس این پدیده بسیار مهم می‌باشد.

چندین مکانیسم می‌تواند سبب ایجاد اثر پروزون گردد. اول این که در غلظت‌های بالای آنتی‌بادی، تعداد جایگاههای اتصال آنتی‌بادی بسیار بیشتر از تعداد اپی‌توپ‌ها می‌باشد. در

1- rocket electrophoresis
2- agglutination
3- prozone effect

www.bbooks.ir

نتیجه اغلب آنتی‌بادی‌ها به جای این که به صورت چند ظرفیتی به آنتی‌ژن اتصال یابند، تنها به صورت تک ظرفیتی به آنتی‌ژن متصل می‌شوند. آنتی‌بادی که به صورت تک ظرفیتی اتصال یافته نمی‌تواند بین دو آنتی‌ژن، اتصال متقاطع ایجاد نماید. اثر پروزون را به سهولت می‌توان با انجام آزمون در غلظت‌های مختلف آنتی‌بادی یا آنتی‌ژن تشخیص داد. در صورت تهیه نمونه حاوی غلظت بهینه آنتی‌بادی، آگلوتیناسیون یا هر پارامتر دیگری که در این آزمون سنجیده می‌شود، بالاترین میزان را خواهد داشت. زمانی که از آنتی‌بادی پلی‌کلونال استفاده می‌شود، اثر پروزون به دلایل دیگری رخ می‌دهد. آنتی‌سرم ممکن است حاوی غلظت بالایی از آنتی‌بادی باشد که به آنتی‌ژن اتصال می‌یابد اما سبب آگلوتیناسیون نمی‌گردد؛ این آنتی‌بادی‌ها که **آنتی‌بادی‌های ناکامل**[1] خوانده می‌شوند، اغلب از کلاس IgG می‌باشند. در غلظت‌های بالای IgG، آنتی‌بادی‌های ناکامل ممکن است بیشتر جایگاههای آنتی‌ژن را اشغال نموده و مانع از دسترسی آگلوتنیین خوبی همچون IgM شوند. این اثر در آنتی‌بادی‌های منوکلونال آگلوتینه کننده دیده نمی‌شود. فقدان فعالیت آگلوتیناسیون یک آنتی‌بادی ناکامل به دلیل محدودیت انعطاف‌پذیری ناحیه لولا می‌باشد به گونه‌ای که مانع از شکل‌گیری زاویه مناسب آنتی‌بادی برای ایجاد اتصال متقاطع بین اپی‌توپ‌های دو یا چند آنتی‌بادی ذره‌ای می‌شود. به علاوه تراکم توزیع اپی‌توپ‌ها یا قرارگیری برخی اپی‌توپ‌ها در فرورفتگی‌های عمیق در آنتی‌ژن‌های ذره‌ای، دسترسی آنتی‌بادی‌های اختصاصی به این اپی‌توپ‌ها برای آگلوتینه کردن برخی آنتی‌ژن‌های ذره‌ای را دشوار می‌سازد برای حل این دو مشکل می‌توان از آنتی‌بادی‌های متفاوتی استفاده کرد که با اپی‌توپ‌های دیگر آنتی‌ژن واکنش داده و محدودیت‌های فوق را نداشته باشند.

1- incomplete antibodies

www.bbooks.ir

- هماگلوتیناسیون در تعیین گروه خون به کار می‌رود

واکنش آگلوتیناسیون (شکل ۸-۶) برای تعیین نوع گلبول‌های قرمز خون (RBC) استفاده می‌شود. این آزمایش با انجام سالیانه ده میلیون بار، یکی از شایع‌ترین آزمون‌های ایمنی می‌باشد. برای تعیین آنتی‌ژن‌های ABO، RBCها با آنتی‌سرم آنتی‌ژن‌های گروه خونی A یا B بر روی یک سطح جامد مخلوط می‌شوند. در صورت وجود آنتی‌ژن بر سطح سلول، سلول‌ها آگلوتینه شده و بر روی سطح جامد، توده قابل مشاهده‌ای تشکیل می‌دهند. برای اطمینان از صحت آزمایش، خون دهنده به منظور حضور آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های ABO بررسی می‌شود. اگر دهنده دارای آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های ABO خودش نباشد، سلول و شاخص‌های آنتی‌بادی با یکدیگر سازگار بوده و صحت آزمون سلولی تأیید می‌شود. اگر نتیجه ناسازگار باشد و آزمون آگلوتیناسیون نشان دهد که دهنده، آنتی‌بادی‌هایی داردکه با آنتی‌ژن‌های ABO خودش واکنش می‌دهد، بنابراین خطایی در آزمون وجود دارد. نمونه‌هایی که نتیجه آزمون مجدد آنها باز هم ناسازگار باشد، غیر قابل تزریق می‌باشند.

- آگلوتیناسیون باکتریایی برای تشخیص عفونت استفاده می‌شود

عفونت باکتریایی اغلب سبب ایجاد آنتی‌بادی‌های سرمی اختصاصی برای آنتی‌ژن‌های سطحی سلول‌های باکتریایی می‌شود. حضور چنین آنتی‌بادی‌هایی را می‌توان توسط واکنش‌های آگلوتیناسیون باکتریایی تشخیص داد. سرم بیماری که تصور می‌شود با یک باکتری آلوده شده باشد را به صورت رقت سریال در ردیفی از لوله‌ها رقیق نموده و باکتری را به آنها اضافه می‌کنیم. آخرین لوله حاوی آگلوتیناسیون قابل مشاهده، بیانگر تیتر[1] آنتی‌بادی سرم بیمار می‌باشد. تیتر آگلوتینین، عبارت است از معکوس بالاترین رقتی از سرم که واکنش آگلوتیناسیون مثبت ایجاد نموده است. برای مثال اگر رقت‌های سریال دو برابر

1- titer

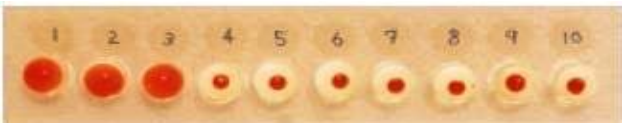
www.bbooks.ir

از سرم تهیه شود و رقت $\frac{1}{640}$ آگلوتیناسیون نشان دهد اما رقت $\frac{1}{1280}$ نشان ندهد، تیترآگلوتیناسیون سرم بیمار، ۶۴۰ می‌باشد. در برخی موارد، سرم می‌تواند تا بیش از $\frac{1}{50000}$ رقیق شود و هنوز هم آگلوتیناسیون باکتری مشاهده شود.

تیتر آگلوتینین یک آنتی‌سرم را می‌توان برای تشخیص عفونت باکتریایی به کار برد. برای مثال بیماران مبتلا به حصبه، افزایش چشمگیری در تیتر آگلوتیناسیون برای سالمونلاتیفی را نشان می‌دهند. واکنش‌های آگلوتیناسیون همچنین برای طبقه‌بندی باکتری‌ها نیز به کار می‌روند. برای مثال، گونه‌های مختلف باکتری سالمونلا را می‌توان توسط واکنش‌های آگلوتیناسیون با استفاده از یک مجموعه از آنتی‌سرم‌های معین، مشخص نمود.

- آگلوتیناسیون غیر فعال، برای آنتی‌ژن‌های محلول مناسب می‌باشد

حساسیت و سهولت واکنش‌های آگلوتیناسیون را می‌توان برای آنتی‌ژن‌های محلول نیز به کار گرفت. در این روش RBCهای پوشیده شده با آنتی‌ژن، از مخلوط نمودن آنتی‌ژن محلول و RBCهایی که با اسیدتانیک یا کلریدکروم تیمار شده‌اند، تهیه می‌شوند. سرم حاوی آنتی‌بادی به صورت رقت سریال در چاهک‌های میکروپلیت ریخته شده و سپس RBCهای پوشیده شده با آنتی‌ژن به هر کدام از این چاهک‌ها اضافه می‌شود، آگلوتیناسیون توسط میزان الگوی پخش RBCها در ته چاهک‌ها ارزیابی می‌شود (شکل ۸-۶).



شکل ۸-۶: اثبات هماگلوتیناسیون با استفاده از آنتی بادی های ضد گلبول های قرمز خون گوسفند (SRBCs). لوله کنترل (۱۰) تنها حاوی SRBC می باشد. لوله های ۱ تا ۹ دارای تعداد ثابتی از SRBC به علاوه رقت های سریال سرم ضد SRBC می باشند. آزمایش، هماگلوتیناسیون مثبت را در لوله ۳ نشان می دهد.

www.bbooks.ir

در سال‌های اخیر، ذرات مصنوعی مانند ذرات لاتکس به عنوان بستری برای واکنش‌های آگلوتیناسیون، جایگزین RBCها گشته‌اند. زمانی که آنتی‌ژن با ذرات لاتکس همراه می‌گردد، ترکیب حاصل می‌تواند بلافاصله مورد استفاده قرار گیرد یا ذخیره شود، استفاده از دانه‌های مصنوعی دارای مزیت‌هایی همچون یکنواختی و پایداری می‌باشند. بنابراین واکنش‌های آگلوتیناسیونی که در آنها ذرات مصنوعی استفاده شده باشد را می‌توان به سرعت (۳ تا ۵ دقیقه پس از مخلوط کردن) قرائت نمود. تفاوتی ندارد که از RBC استفاده شود یا از ذرات مصنوعی، در هر حال واکنش‌های آگلوتیناسیون به سهولت قابل انجام می‌باشند و مقادیر ناچیز آنتی‌بادی(در حد نانوگرم درمیلی‌لیتر) را شناسایی می‌کنند.

- در روش ممانعت از آگلوتیناسیون، عدم آگلوتیناسیون نشانه حضور آنتی‌ژن می‌باشد

یک واکنش آگلوتیناسیون اصلاح شده با نام ممانعت از آگلوتیناسیون، آزمونی بسیار حساس برای سنجش مقادیر ناچیز یک آنتی‌ژن فراهم می‌کند. همچنین آزمون‌های ممانعت از آگلوتیناسیون را می‌توان برای تشخیص این که آیا شخص داروهای غیرمجاز خاصی مانند کوکائین یا هروئین مصرف کرده یا خیر نیز به کار برد. در ابتدا نمونه خون یا ادرار با آنتی‌بادی ویژه داروی مورد نظر مجاور می‌شود، سپس ذرات پوشیده شده با آنتی‌ژن اضافه می‌گردد. اگر ذرات توسط آنتی‌بادی آگلوتینه نشوند، نمونه حاوی آنتی‌ژنی می‌باشد که توسط آنتی‌بادی شناسایی شده است و بدین معنی است که شخص از دارو استفاده کرده است.

آزمون‌های ممانعت از آگلوتیناسیون به طور گسترده در آزمایشگاههای تشخیص طبی جهت تشخیص این که آیا شخص با برخی از ویروس‌هایی که موجل آگلوتیناسیون RBCها می‌گردند مواجه شده‌اند یا خیر نیز استفاده می‌شود. اگر سرم شخص حاوی آنتی‌بادی‌های ضد ویروس خاص باشد، بنابراین آنتی‌بادی‌ها به ویروس متصل خواهند شد و در

www.bbooks.ir

هماگلوتیناسیون توسط ویروس مداخله می‌کنند این روش به طـور شـایع در آزمـایش‌هـای پیش از بارداری جهت تشخیص ایمنی زنان نسـبت بـه ویـروس روبـلا اسـتفاده مـی‌شـود. معکوس آخرین رقت سرم که از هماگلوتیناسیون روبلا ممانعت کند، تیتـر سـرم مـی‌باشـد. تیتر بالای ۱۰ نشان می‌دهد که زن نسبت به روبلا ایمن می‌باشد در حالی که تیتر پایین‌تـر از ۱۰ نشان‌دهنده فقدان ایمنی بوده و شخص نیازمند واکسیناسیون می‌باشد.

- رادیوایمونواسی

یکی از حساس‌ترین روش‌ها برای شناسایی آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی رادیوایمونواسـی[1] (RIA) می‌باشد. این روش برای اولین بار در سال ۱۹۶۰ توسط برسون و یـالو بـرای تعیـین میـزان مجموعه‌های انسولین- ضد انسولین در افراد دیابتی، به کار رفـت . اگـر چـه روش‌آنهـا بـا بدبینی‌هایی روبرو شد امـا بـه زودی ارزش آن بـرای سـنجش هورمـون‌هـا، پـروتئین‌هـای سرم،داروها و ویتامین‌های سرم، داروها و ویتامین‌هـا در غلظـت‌هـای $\frac{1}{1000}$ میکروگـرم در میلی‌لیتر یا کمتر، ثابت شد. در ۱۹۷۷ اهمیت این روش با اهدای جایزه نوبل به یـالو تأییـد شد.

اصول RIA بر پایه اتصال رقابتی آنتی‌ژن نشاندار با رادیواکتیو و آنتی‌ژن غیر نشاندار، بـه یک آنتی‌بادی با میل پیوندی بالا می‌باشد. آنتی‌ژن نشـاندار بـا آنتـی‌بـادی در غلظتـی کـه جایگاههای اتصال آنتی‌بادی اشباع نگردد، مخلوط می‌شود. سپس به نمونه‌های مورد آزمـون آنتی‌ژن غیر نشاندار با غلظت نامشخص اضافه می‌گردد. آنتی‌بادی، آنتی‌ژن نشاندار و غیـر نشاندار را از هم تمیز نمی‌دهد، بنابراین دو نوع آنتی‌ژن برای جایگاههای اتصـال موجـود در آنتی‌بادی با هم رقابت می‌کنند. همان‌گونه که غلظت آنتی‌ژن غیر نشاندار افزایش می‌یابـد، آنتی‌ژن‌های نشاندار بیشتری از جایگاههای اتصال جدا مـی‌شـوند. کـاهش میـزان آنتـی‌ژن

1- radioimmunoassay(RIA)

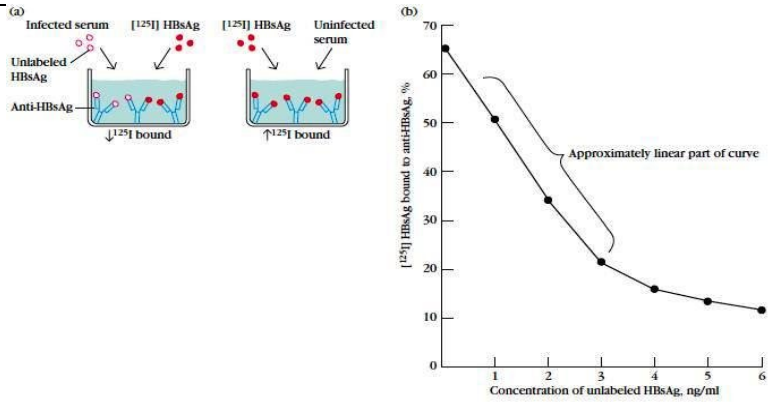
www.bbooks.ir

نشاندار با رادیواکتیو متصل به آنتی‌بادی اختصاصی، در حضور نمونه مورد آزمایش به منظور تعیین میزان آنتی‌ژن موجود در نمونه مورد آزمایش سنجش می‌شود.

آنتی‌ژن معمولاً توسط ^{125}I نشاندار می‌شود، اما ^{3}H (تریتیوم) نیز گاهی به کار می‌رود. آنتی‌ژن نشاندار با رادیواکتیو، بخشی از مخلوط آزمون می‌باشد؛ نمونه مورد آزمون ممکن است مخلوط پیچیده‌ای باشد که حاوی آنتی‌ژن غیرنشاندار می‌باشد. گام اول در راه‌اندازی یک RIA تعیین آنتی‌بادی مورد نیاز برای اتصال به ۵۰ تا ۷۰ درصد از آنتی‌ژن‌های رادیواکتیو در مخلوط آزمایش می‌باشد. برای تعیین میزان آنتی‌ژن نشاندار متصل، مجموعه Ag-Ab برای تفکیک از آنتی‌ژن آزاد رسوب داده می‌شود و رادیواکتیویته رسوب سنجیده می‌شود. منحنی استانداردی را می‌توان با استفاده از نمونه‌های آنتی‌ژن غیرنشاندار با غلظت‌های مشخص ایجاد نمود و از طریق این نمودار، میزان آنتی‌ژن موجود در مخلوط مورد آزمون را به طور دقیق تعیین نمود.

RIA های فاز جامد گوناگونی به وجود آمده‌اند که تفکیک مجموعه Ag-Ab از آنتی‌ژن آزاد را آسان‌تر کرده‌اند. در برخی موارد، آنتی‌بادی به صورت کووالان به دانه‌های سفارز اتصال می‌یابد. میزان آنتی‌ژن نشاندار متصل به دانه‌ها را می‌توان پس از سانتریفوژ و شستشوی دانه‌ها سنجش نمود. برعکس، آنتی‌بادی را می‌توان روی چاهک‌های پلی‌استیرن یا پلی‌وینیل کلراید ثابت نمود و میزان آنتی‌ژن نشاندار آزاد در مایع رویی را نیز می‌توان در یک شمارشگر رادیواکتیو تعیین نمود. در روش دیگر، آنتی‌بادی روی دیواره چاهک‌های میکروپلیت ثابت شده و میزان آنتی‌ژن متصل تعیین می‌گردد. به دلیل این که این روش تنها به میزان ناچیزی از نمونه نیاز دارد، می‌توان آن را در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای انجام داد؛ این روند برای تعیین غلظت آنتی‌ژن ذره‌ای در زمانی که تعداد نمونه‌ها زیاد است، بسیار مناسب می‌باشد. برای مثال یک میکروپلیت RIA به طور گسترده برای غربالگری حضور ویروس هپاتیت B استفاده می‌شود (شکل ۹-۶). غربالگری RIA افراد دهنده خون مبتلا به هپاتیت B، بروز عفونت هپاتیت B در بین پذیرندگان خون را بسیار کاهش داده است.

www.bbooks.ir



شکل ۹-۶: یک رادیوایمونواسی فاز جامد جهت شناسایی ویروس هپاتیت B در نمونه های خون. (a) چاهک های میکروتیتر با مقادیر ثابتی از آنتی بادی اختصاصی ضد HBsAg پوشیده می شوند. یک نمونه سرمی و HBsAg[I^{125}] به آن اضافه می شود. پس از انکوباسیون، مایع رویی برداشته شده و میزان رادیواکتیو مجموعه های Ag-Ab اندازه گیری می شود. در صورت آلوده بودن نمونه، میزان اتصال ماده نشاندار کمتر از کنترل های حاوی سرم غیرآلوده می باشد. (b) یک منحنی استاندارد که با اضافه کردن غلظت های افزایشی HBsAg غیر نشاندار جهت تهیه مقدار ثابت HBsAg [I^{125}] و آنتی بادی اختصاصی آن به دست می آید. نمودار درصد اتصال آنتی ژن نشاندار نسبت به غلظت آنتی ژن غیر نشاندار در تصویر نشان داده شده است.

- آزمون جذب ایمنی همراه با آنزیم (ELISA)

آزمون **جذب ایمنی همراه با آنزیم**[1] که بیشتر با نام **ELISA** یا EIA شناخته شده می‌باشد، اساسی شبیه RIA دارد ولی به جای ماده رادیواکتیو با آنزیم نشاندار می‌گردد. آنزیم کونژوگه به آنتی‌بادی با یک سوبسترای فاقد رنگ واکنش داده و این واکنش منجر به تولید محصول رنگ‌زا می‌شود. چنین سوبسترایی، **سوبسترای رنگ‌زا**[2] نامیده‌می‌شود. آنزیم‌های گوناگونی که در الایزا به کاربرده می‌شوند، شامل آلکالن فسفاتازها، پراکسیداز تربچه کوهی (HRP) و β گالاکتوزیداز می‌باشند. این آزمون، حساسیتی مطابق با RIA و مزایایی همچون ایمن‌تر و هزینه کمتر را داراست.

1- Enzyme-linked immunosorbant assay
2- chromogenic substrate

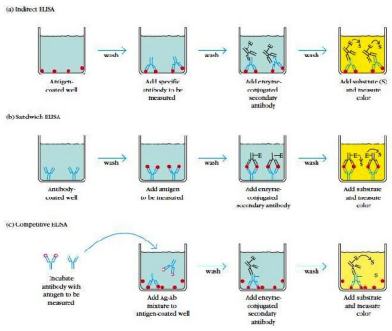
www.bbooks.ir

- انواع الیزا

تعداد متنوعی الایزا تولید شده است که سنجش کمی و کیفی آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی را امکان‌پذیر می‌سازند. هر نوع الایزا را می‌توان برای سنجش کیفی حضور آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی مورد استفاده قرار داد. با رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های معلوم آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی، می‌توان غلظت نامعلوم نمونه را تعیین کرد.

- الایزای غیر مستقیم

آنتی‌بادی را می‌توان به صورت کمی یا کیفی با الایزای غیر مستقیم شناسایی کرد (شکل ۱۰-۶).



شکل ۱۰-۶: تغییر پذیری در تکنیک ELISA امکان شناسایی آنتی بادی و آنتی ژن را فراهم می آورد.

سرم یا سایر نمونه‌های حاوی آنتی‌بادی اول (Ab_1) به چاهک‌های میکروپلیت پوشیده با آنتی‌ژن، اضافه می‌شود تا با آنتی‌ژن واکنش دهد. سپس Ab_1 آزاد شسته می‌شود و حضور آنتی‌بادی اتصال یافته به آنتی‌ژن را می‌توان با اضافه کردن آنتی‌بادی دوم کونژوگه با آنزیم (Ab_2) که به آنتی‌بادی اول متصل می‌شود، شناسایی کرد. سپس Ab_2 آزاد، شسته شده و سوبسترای آنزیم اضافه می‌گردد. با اسپکتروفوتومترهای مخصوص که قادرند جذب تمام

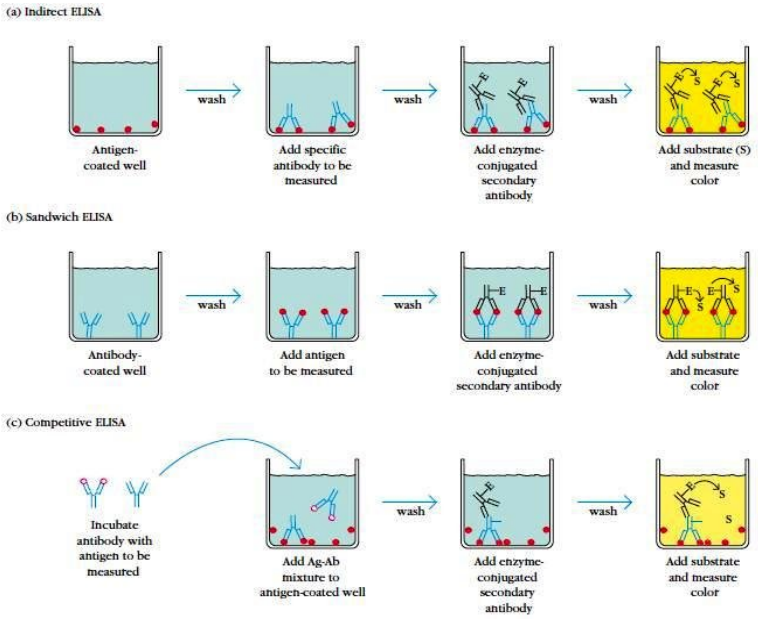
www.bbooks.ir

۹۶ چاهک پلیت را در چند ثانیه سنجش نمایند، میـزان رنـگ حاصـل از واکـنش خوانـده می‌شود.

الایزای غیر مستقیم روشـی انتخـابی بـرای تعیـین حضـور آنتـی‌بـادی‌هـای سـرم علیـه HIVمی‌باشد. در این آزمون، پروتئین‌های نوترکیب پوشش و هسته HIV به تـه چاهـک‌هـا متصل می‌شوند. افراد آلوده به HIV، آنتی‌بادی‌های سرمی علیه اپی‌توپ‌های این پروتئین‌هـا تولید می‌کنند. معمولاً آنتی‌بادی‌های سرمی علیه HIV، شش هفته پـس از عفونـت، بوسـیله الایزای غیر مستقیم قابل شناسایی می‌باشند.

- الایزای ساندویچی

آنتی‌ژن را می‌توان بوسیله الایزای ساندویچی به طور کمی یا کیفی شناسـایی کـرد (شـکل ۱۰-۶) .



شکل ۱۰-۶: تغییر پذیری در تکنیک ELISA امکان شناسایی آنتی بادی و آنتی ژن را فراهم می آورد.

www.bbooks.ir

در این روش آنتی‌بادی در ته چاهک‌های میکروپلیت ثابت می‌شود. هر نمونه حاوی آنتی‌ژن به چاهک‌ها اضافه می‌گردد. پس از شستشوی چاهک‌ها، آنتی‌بادی کونژوگه اختصاصی برای اپی‌توپ دیگری از آنتی‌ژن اضافه شده و با آنتی‌ژن متصل واکنش می‌دهد. پس از آن، آنتی‌بادی دوم آزاد شسته می‌شود، سوبسترا اضافه گردیده و محصول رنگی واکنش سنجش می‌شود.

- الایزای رقابتی

روش دیگری برای سنجش میزان آنتی‌ژن، الایزای رقابتی می‌باشد(شکل ۱۰-۶). در این روش، ابتدا آنتی‌بادی با نمونه حاوی آنتی‌ژن مجاور می‌شود. سپس مخلوط Ag-Ab به چاهک‌های پلیت پوشیده با آنتی‌ژن اضافه می‌گردد. حضور بالای آنتی‌ژن در نمونه موجب می‌گردد تا آنتی‌بادی آزاد کمتری جهت اتصال به Ag ته چاهک باقی مانده باشد. Ab_2 ویژه ایزوتیپ و کونژوگه با آنزیم را می‌توان برای تعیین میزان آنتی‌بادی اول اتصال یافته به چاهک اضافه نمود.

- کمی‌لومینسانس

نور ایجاد شده بوسیله کمی‌لومینسانس در طی واکنش‌های ویژه شیمیایی، جایگزینی مناسب و بسیار حساس برای سنجش میزان جذب در الایزا می‌باشد. در الایزاهایی که از کمی‌لومینانس استفاده می‌کنند، یک سوبسترای نورزا به جای سوبسترای رنگ‌زای معمول به کار می‌رود. برای مثال اکسیداسیون ترکیب لومینول به واسطه H_2O_2 و آنزیم پراکسیداز ترب کوهی (HRP) نور تولید می‌کنند:

$$\text{Ab-HRP} + \text{Ag} \longrightarrow \text{Ab-HRP-Ag} \xrightarrow[+\,H_2O_2]{\text{luminol}} \text{Light}$$

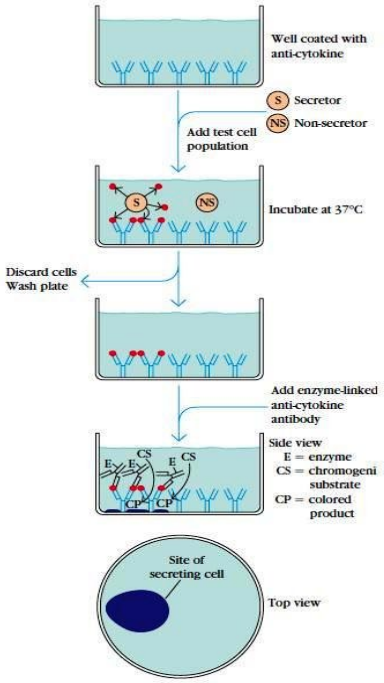
www.bbooks.ir

نور تولیدی در خلال واکنش نورزا را می‌توان بواسطه توانایی آن در ظهور فیلم عکاسی شناسایی نمود. سنجش کمی تابش با استفاده از لومینومتر امکان‌پذیر می‌باشد. مزیت آزمون کمی‌لومینسانس نسبت به نوع رنگ‌زا، حساسیت بالای آن می‌باشد. معمولاً محدودیت شناسایی را می‌توان با تغییر از سوبسترای رنگ‌زا به نورزا، ۱۰ برابر افزایش داد و با اضافه نمودن عوامل تشدید کننده به بیش از ۲۰۰ برابرنیز افزایش داد. در حقیقت تحت شرایط ایده‌آل، شناسایی ۵×۱۰^{-۸} مول آنتی‌ژن هدف امکان پذیر می‌باشد.

- آزمون ELISPOT

یک نوع الایزای تغییر یافته با نام آزمون ELISPOT را می‌توان برای تعیین تعداد سلول‌های ترشح کننده آنتی‌بادی ویژه یک آنتی‌ژن یا تعیین سلول‌های تولید کننده آنتی‌ژن در جمعیتی از سلول‌ها، به کار برد (شکل۱۱-۶).

www.bbooks.ir



شکل ۱۱-۶: در آزمون ELISPOT یک چاهک با آنتی بادی ضد آنتی ژن مورد نظر پوشیده می شود که در این مثال یک سایتوکاین می باشد. سپس سوسپانسیون سلولی که حاوی مقداری سایتوکاین ترشحی می باشد بر روی کف چاهک گذاشته شده و انکوبه می شود. اکثر مولکول های سایتوکاین که توسط یک سلول خاص ترشح می شوند با آنتی بادی های متصل به چاهک مجاور واکنش می دهند. پس از یک دوره انکوباسیون، چاهک شسته شده و آنتی بادی ضد سایتوکاین نشاندار با آنزیم، به آن افزوده می شود. پس از مرحله شستشو، آنتی بادی متصل نشده شسته شده و بعد یک سوبسترای رنگ زا که محصول رنگی غیرمحلول ایجاد می کند اضافه می شود. محصول رنگی رسوب کرده و نقاط کوچکی را در نقاطی از چاهک که سلول ترشح کننده سایتوکاین حضور دارند به وجود می آورد.

در این روش، پلیت با Ag پوشیده می‌شود (یا با آنتی‌بادی پوشیده می‌شود) سپس سوسپانیسونی از جمعیت سلولی تحت بررسی را به پلیت‌های پوشیده اضافه نموده و انکوبه می‌شوند. سلول‌ها در کف پلیت قرار گرفته و مولکول‌های ترشح شده به Ag یا Ab متصل به چاهک مجاورسلول‌های ترشح کننده متصل می‌شوند. حلقه‌ای از مجموعه‌های Ag-Ab

www.bbooks.ir

اطراف هر سولل تولید کننده مولکول دلخواه ایجاد می‌گردد. سپس پلیت شسته شده و یک آنتی‌بادی کونژوگه با آنزیم ویژه آنتی‌ژن ترشحی یا اختصاصی ضدگونه آنتی‌بادی ترشح شده اضافه می‌گردد تا واکنش انجام شود. سپس با اضافه کردن سوبسترای رنگ‌زا یا نورزای مناسب، موقعیت سلول‌های تولید کننده آنتی‌بادی یا آنتی‌ژن، به صورت نقاطی رنگی یا روشن مشخص می‌شود.

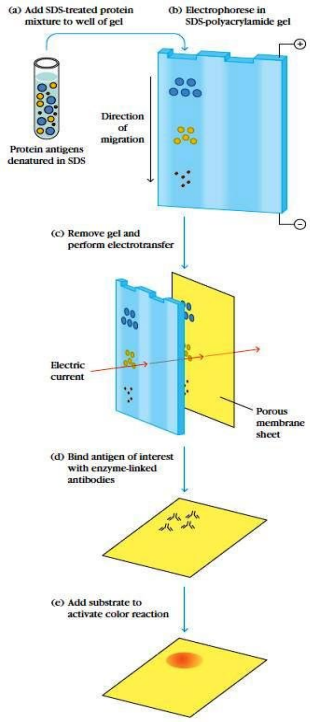
- لکه‌گذاری وسترن

شناسایی یک پروتئین خاص در مخلوط پیچیده‌ای از پروتئین‌ها را می‌توان بوسیله روشی با نام **لکه‌گذاری وسترن**[1] انجام داد. در این روش، مخلوط پروتئینی به صورت الکتروفورزی روی ژل پلی‌آکریل آمید حاوی**SDS**[2] (SDS-PAGE) تفکیک می‌شوند(شکل ۱۲-۶). سپس نوارهای پروتئینی بوسیله الکتروفورز به غشای نیتروسلولزی منتقل می‌شوند و نوارهای پروتئینی اختصاصی با مجاور نمودن غشا با آنتی‌بادی‌های منوکلونال یا پلی‌کلونال کونژوگه با آنریم یا ماده رادیواکتیو شناسایی می شوند. مجموعه Ag-Ab تشکیل شده روی نوار، حاوی پروتئین شناسایی شده توسط آنتی‌بادی بوده و از روش‌های گوناگونی می‌توان آن را نشان داد. اگر پروتئین دلخواه به یک آنتی‌بادی نشاندارشده با رادیواکتیو متصل شود، با قرار دادن غشا بر روی یک صفحه فیلم x-ray موقعیت آن روی بلات مشخص می‌شود که به این فرآیند، خود پرتونگاری اتلاق می‌شود. با این وجود در بیشتر موارد از آنتی‌بادی‌های کونژوگه با آنزیم استفاده می‌شود. پس از اتصال آنزیم-آنتی‌بادی، با اضافه نمودن سوبسترای رنگ‌زا، یک رنگ قوی و نامحلول تولید می‌شود که حضور نوار رنگی نشان دهنده جایگاه آنتی‌ژن هدف می‌باشد. اگر یک ترکیب

1- western blotting
2- SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

www.bbooks.ir

کمی‌لومینسانس با عامل تشدید کننده مناسب برای تولید نور در جایگاه آنتی‌ژن مورد استفاده قرار بگیرد، حتی حساسیت بیشتر از این نیز قابل دست‌یابی می‌باشد.



شکل ۱۲-۶: در لکه گذاری وسترن، (a) مخلوطی از پروتئین با SDF مجاور می شود و سپس (b) با الکتروفورز در یک ژل SDS پلی آکریل آمید بر حسب وزن مولکولی از یکدیگر مجزا می شوند. (c) سپس این ژل از دستگاه خارج شده و بر روی یک صفحه نیتروسلولزی یا نایلونی گذاشته می شود تا پروتئین به آن متصل شود و این پروتئین ها در ژل با عبور جریان الکتریکی به کاغذ نیتروسلولزی منتقل می شوند. (d) اضافه کردن آنتی بادی متصل به آنزیم موجب شناسایی آنتی ژن مورد نظر می شود و (e) رسوب آنتی بادی ها را می توان بوسیله یک واکنش الایزا مشاهده کرد.

لکه‌گذاری وسترن همچنین می‌تواند آنتی‌بادی اختصاصی در یک مخلوط را شناسایی کند.در این مورد، آنتی‌ژن‌های با وزن مولکولی شناخته شده توسط SDS-PAGE تفکیک شده و بر روی نیتروسلولز لکه‌گذاری می‌شوند. سپس نوارهای مجزای آنتی‌ژن‌های شناخته

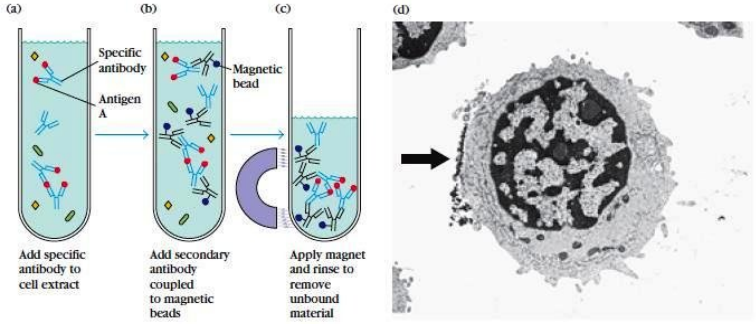
www.bbooks.ir

شده بوسیله نمونه‌های مشکوک حاوی آنتی‌بادی اختصاصی برای یک یا چند آنتی‌ژن بررسی می‌شوند. واکنش آنتی‌بادی با یک نوار بوسیله آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه با آنزیم یا رادیواکتیو (اختصاصی گونه آنتی‌بادی موجود در نمونه مورد آزمون) مشخص می‌شود. بیشترین کاربرد این فرآیند، آزمون تأیید HIV می‌باشد، به طوری که لکه‌گذاری وسترن برای تعیین این که آیا بیمار آنتی‌بادی‌های واکنش‌دهنده با یک یا چند پروتئین ویروسی را داراست یا خیر، استفاده می‌شود.

- رسوب ایمنی

برای جداسازی آنتی‌ژن دلخواه جهت بررسی بیشتر، روش **رسوب ایمنی** مفید می‌باشد. همچنین این روش، آزمونی حساس برای شناسایی حضور یک آنتی‌ژن مشخص در انواع سلول‌ها یا بافت‌ها می‌باشد. عصاره بدست آمده از تخریب سلول‌ها یا بافت‌ها با آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن دلخواه، به منظور تشکیل رسوب مجموعه Ab-Ag مخلوط می‌گردد. با این حال، اگر غلظت آنتی‌ژن پایین باشد، تجمع مجموعه آنتی‌ژن – آنتی‌بادی برای تشکیل رسوب، چندین ساعت و یا حتی چندین روز زمان می‌برد و جداسازی رسوب ایمنی ناچیز حاصل نیز بسیار دشوار می‌باشد. یکی از راههای جلوگیری از این محدودیت، اتصال آنتی‌بادی به یک بستر جامد (مثل دانه‌های مصنوعی) می‌باشد که با سانتریفوژ، جمع‌آوری مجموعه Ab-Ag را ممکن می‌سازد. راه دیگر این است که یک آنتی‌بادی ثانویه ویژه آنتی‌بادی اول اضافه کنیم تا به مجموعه آنتی‌ژن- آنتی‌بادی اتصال یابد. اگر آنتی‌بادی ثانویه به دانه متصل شده باشد، مجموعه ایمنی را می‌توان با سانتریفوژ جمع‌آوری نمود. یک شکل خلاقانه این فرآیند، ترکیب نمودن آنتی بادی ثانویه به ذرات مغناطیسی می‌باشد. پس از این که آنتی‌بادی ثانویه به آنتی‌بادی اولیه اتصال یافت، رسوب ایمنی با قراردادن یک آهن‌ربا در یک سمت لوله، قابل جمع‌آوری می‌باشد (شکل ۱۳-۶).

www.bbooks.ir



شکل ۱۳-۶: رسوب ایمنی را می توان با استفاده از بیدهای مغناطیسی متصل به آنتی بادی ثانوی جمع آوری کرد. (a) مجاورت عصاره سلولی حاوی آنتی ژن A با یک آنتی بادی موشی ضد A موجب تشکیل مجموعه های Ag-Ab می شود. (b) افزودن بیدهای مغناطیسی به یک آنتی بادی خرگوشی ضد موش که به مجموعه های Ag-Ab متصل شده است. (c) قرار دادن یک قطعه مغناطیسی در گوشه ای از لوله که موجب جمع آوری سریع مجموعه های Ag-Ab می شود. (d) میکروگراف الکترونی که یک سلول را با بیدهای مغناطیسی نشان می دهدکه آنتی بادی ها به سطح آن متصل شده اند.

- ایمونوفلورسانس

در سال ۱۹۴۴، **آلبرت کونس**[1] نشان داد که آنتی‌بادی‌ها را می‌توان با مولکول‌هایی که خاصیت فلورسانس دارند، نشاندار نمود. مولکول‌های فلورسانس، یک طول موج نوری را جذب کرده (برانگیختگی) و نور با طول موج دیگری را ساطع می‌کنند (تابش). اگر مولکول‌های آنتی‌بادی با رنگ‌های فلورسانس (**فلوروکروم**[2]) نشاندار شوند، مجموعه‌های ایمنی حاوی این آنتی‌بادی‌های نشاندار شده با فلورسانس را می‌توان بوسیله نوررنگی ساطع شده شناسایی نمود. به طور مشابه، مولکول‌های آنتی‌بادی متصل به آنتی‌ژن‌ها در سلول‌ها یا بخش‌هایی از بافت را می‌توان قابل مشاهده نمود. نور ساطع شده را می‌توان با میکروسکوپ فلورسنت مجهز به نور فرابنفش مشاهده نمود. در این روش، استفاده از ترکیبات فلورسنت مانند فلورسئین و رودامین شایع می‌باشد، اما سایر مواد فلورسنت قوی مانند فایکواریترین

1- Albert Coons
2- flurochrome

www.bbooks.ir

نیز به طور شایع کاربرد دارند. این مواد را بدون این که روی ویژگی آنتی‌بادی تأثیر بگذارند، می‌توان به ناحیه Fc مولکول آنتی‌بادی متصل کرد.

فلورسئین[1]: رنگی معدنی می‌باشد که شایعترین ماده جهت نشاندار کردن در فرآیندهای ایمونوفلورسانس می‌باشد. نورآبی (۴۹۰nm) را جذب کرده و فلورسنت شدید زرد- سبز(۵۱۷nm) را ساطع می‌کند.

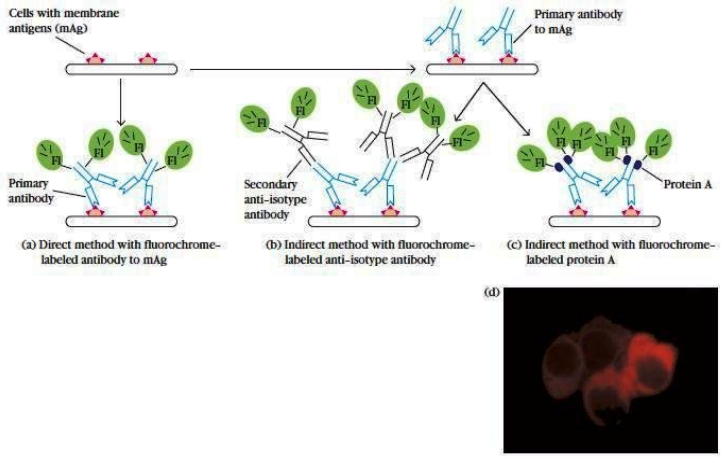
رودامین[2]: رنگ معدنی دیگری که نور زرد- سبز (۵۱۵nm) را جذب کرده و نور قرمز (۵۴۶nm) را ساطع می‌کند. بدلیل این که رودامین نسبت به فلورسئین طول موج بالاتری را ساطع می‌کند، می‌توان از آنها در آزمون‌های ایمونوفلورسانس دو رنگی استفاده کرد.

فایکواریترین[3]، یک جاذب کارآمد نور (تقریباً ۳۰ برابر بیشتر از فلورسئین) می‌باشد و فلورسنت قرمز درخشانی را ساطع می‌کند که موجب شده به عنوان یک ماده جهت نشاندار کردن در ایمونوفلورسانس به کار گرفته شود.

با استفاده از آنتی‌بادی فلورسنت، می‌توان مولکول‌های غشایی یا بخش‌هایی از بافت را به صورت مستقیم یا غیر مستقیم رنگ‌آمیزی نمود (شکل ۱۴-۶).

1- fluorescein
4- Rhodamine
3- phycoerythrin

www.bbooks.ir



شکل ۱۴-۶: رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس مستقیم و غیرمستقیم. (a) در روش مستقیم با آنتی بادی ضد آنتی ژن غشایی که با یک فلوروکروم نشاندار شده رنگ آمیزی شده است. (b) و (c) در روش غیرمستقیم ابتدا سلول ها با یک آنتی بادی غیر نشاندار ضد آنتی ژن غشایی انکوبه شده و سپس با یک معرف نشاندار با فلوروکروم رنگ آمیزی می شوند. (d) در این شکل، مولکول های آنتی بادی حاوی زنجیره سنگین μ با رنگ آمیزی مستقیم سلول ها با یک آنتی بادی کونژوگه با رودامین شناسایی می شوند.

در **رنگ‌آمیزی مستقیم**[1]، آنتی‌بادی اختصاصی (اول) مستقیماً با فلورسئین کونژوگه می‌شود؛ در **رنگ‌آمیزی غیر مستقیم**[2]، آنتی‌بادی اولیه نشاندار نبوده و با اضافه نمودن یک معرف نشاندار با فلورکروم، قابل شناسایی می‌باشد. معرف‌های متعددی برای رنگ‌آمیزی غیرمستقیم ایجاد شده‌اند. شایع‌ترین آنها آنتی‌بادی ثانویه نشاندار شده با فلورکروم و تولیدی دریک گونه علیه آنتی‌بادی‌های سایر گونه‌ها می‌باشد.

رنگ‌آمیزی ایمونو فلورسانس غیر مستقیم نسبت به رنگ‌آمیزی مستقیم دارای دو مزیت می‌باشد. اول، نیازی به کونژوگه کردن آنتی‌بادی اول با فلورکروم نمی‌باشد و در روش‌های غیرمستقیم از هدر رفتن آنتی‌بادی‌ها که معمولاً در خلال واکنش کونژوگه‌سازی رخ می‌دهد

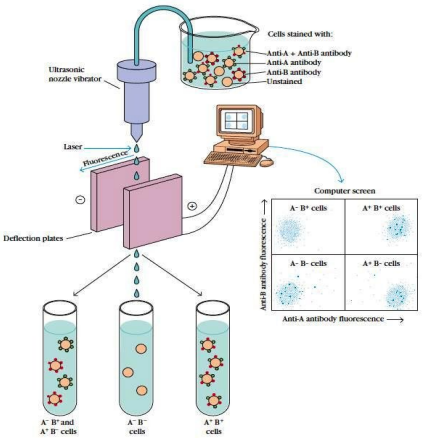
1- direct staining
2- indirect staining

www.bbooks.ir

اجتناب می‌شود. دوم، با روش غیر مستقیم، حساسیت رنگ‌آمیزی افزایش می‌یابد زیرا چندین مولکول از معرف فلورکروم به یک مولکول آنتی‌بادی اولیه متصل شده و میزان نور ساطع شده در جایگاه هر مولکول آنتی‌بادی اولیه افزایش می‌یابد.

- فلوسایتومتری

روش‌های آنتی‌بادی فلورسنت بحث شده، ابزارهای کیفی ارزشمندی می‌باشند، اما آنها داده‌های کمی را به ما نمی‌دهند. این کمبود با ظهور فلوسایتومتری که برای تحلیل و جداسازی خودکار سلول‌های رنگ‌شده با آنتی‌بادی فلورسنت طراحی شده، برطرف گردید. فلوسایتومتر از یک پرتو لیزر و یک آشکارساز نوری برای شمارش سلول‌های سالم به طور مجزا در سوسپانسیون بهره می‌گیرد(شکل ۱۵-۶).



شکل ۱۵-۶: جداسازی سلول های نشاندار با فلوروکروم با استفاده از فلوسایتومتری.

با عبور سلول از مقابل پرتو لیزر، نور از آشکارساز منحرف شده و قطع پیام لیزر ثبت می‌شود. ساده‌ترین شکل این ابزراها، هر سلول را زمانی که از مقابل پرتو عبور می‌کند می‌شمارد و میزان فلورسنتی که سلول ساطع می‌کند را ثبت می‌نماید؛ یک یارانه متصل به

www.bbooks.ir

دستگاه، با قراردادن تعداد سلول‌ها در عرض و شدت فلورسنت آنها در طول، نمودارهایی را رسم می‌کند. انواع پیشرفته‌تر ابزارها قادرند جمعیت‌های مختلف سلولی شمارش شده را مطابق با الگوی فلورسنت آنها جدا نمایند.

فلوسایتومتری کاربردهای فراوانی در حل مشکلات بالینی و تحقیق دارد. یک کاربرد شایع بالینی آن، تعیین نوع و تعداد سلول‌های سفید خونی در نمونه‌های خون می‌باشد. با تیمار مناسب نمونه‌های خون با یک آنتی‌بادی نشاندار و انجام تحلیل فلوسایتومتری، اطلاعات زیر قابل دست‌یابی است:

- تعداد سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن هدف، هم به صورت تعداد مطلق و هم به صورت درصدی از سلول‌هایی که از مقابل پرتو عبور کرده‌اند.
- توزیع سلول‌ها در جمعیت نمونه مطابق با تراکم آنتی‌ژن و توسط شدت فلورسانس تعیین می‌شود.
- اندازه سلول‌ها، این داده‌ها از تحلیل ویژگی‌بخش نور توسط اعضای جمعیت سلولی تحت آزمون به دست می‌آید. همچنین فلوسایتومتری تحلیل جمعیت‌های سلولی را که با دو یا حتی سه آنتی‌بادی فلورسنت متفاوت نشاندار شده‌اند را امکان‌پذیر می‌سازد. هم‌اکنون، فلوسایتومتری موقعیت کلیدی و ابزار بالینی ضروری در ایمونولوژی و زیست‌شناسی سلولی می‌باشد و در بسیاری از مراکز پزشکی، فلوسایتومتری یکی از وسایل ضروری برای شناسایی و طبقه‌بندی لوسمی‌ها می‌باشد.

- جایگزین‌هایی برای واکنش‌های آنتی‌ژن- آنتی‌بادی

برخی باکتری‌ها به منظور دفاع در برابر آنتی‌بادی‌های میزبان، قادرند پروتئین‌هایی تولید کنند که به ناحیه Fc مولکول‌های IgG با میل پیوندی بالا ($k_a \sim ۱۰^{-۸}$) متصل می‌شوند. یکی

www.bbooks.ir

از این مولکول‌ها (**پروتئین A**[1]) در دیواره‌های سلولی برخی از سویه‌های استافیلوکوک اورئوس یافت می‌شود و یک نوع دیگر (**پروتئینG**[2]) در دیواره استرپتوکوک‌های گروه C و G حضور دارند. با کلون‌کردن ژن‌های پروتئین A و G و تولید دورگه‌ای از این پروتئین، می‌توان پروتئین نوترکیبی ایجاد کرد که خصوصیات هر دو را داشته باشد. این مولکول‌ها مفیدند زیرا به IgG گونه‌های متفاوتی متصل می‌شوند. بنابراین، آنها را می‌توان با فلوروکروم یا رادیواکتیو نشاندار نموده و برای شناسایی مولکول‌های IgG در مجموعه Ag-Ab تشکیل شده در الایزا، RIA یا فلوسایتومتری استفاده کرد.

سفیده تخم‌مرغ حاوی پروتئینی به نام آویدین می‌باشد که به بیوتین (ویتامینی که برای سنتز چربی ضروری می‌باشد) متصل می‌شود. اعتقاد بر این است که آویدین به عنوان دفاعی در برابر جوندگان غارتگر که آشیانه‌ها را دزدیده و تخم‌های دزدی را می‌خورند، تکامل یافته باشد. اتصال میان آویدین وبیوتین بی‌نهایت اختصاصی بوده و میل پیوندی بسیار بالایی دارد. پروتئینی باکتریایی به نام **استرپتاویدین**[3]، ویژگی و میل پیوندی بالایی مشابه با آویدین دارد. میل پیوندی غیر معمول و ویژگی با بیوتین باعث شده که به طور گسترده در بسیاری از فرآیندهای ایمنی استفاده شوند. آنتی‌بادی اولیه یا ثانویه با بیوتین نشاندار شده و با آنتی‌ژن هدف انکوبه می‌شوند و آنتی‌بادی اتصال نیافته توسط شستشو خارج می‌گردد. در مرحله بعد آویدین یا استرپتاویدین کونژوگه با یک آنزیم، فلوروکروم یا ماده رادیواکتیو جهت شناسایی آنتی‌بادی اتصال یافته استفاده می‌گردد.

1- Protein A
2- Protein G
3- streptavidin

www.bbooks.ir

- میکروسکوپ الکترونی ایمنی

ویژگی دقیق آنتی‌بادی، آنها را به ابزارهای توانمندی جهت قابل رویت نمودن بخش‌های اختصاصی داخل سلولی در بافت‌ها توسط **میکروسکوپ الکترونی ایمنی**[1] کرده است. در این روش یک ماده نشاندار کننده الکترون دنس با بخش Fc یک آنتی‌بادی اختصاصی جهت رنگ‌آمیزی مستقیم و یا با یک معرف ضد ایمونوگلبولین جهت رنگ‌آمیزی غیر مستقیم، کونژوگه می‌گردد.

شماری از مواد الکترون دنس شامل فریتین و طلای کلوئیدی می‌باشند. این مواد توسط میکروسکوپ الکترونی به صورت لکه‌های سیاه کوچک، قابل مشاهده می‌باشند.

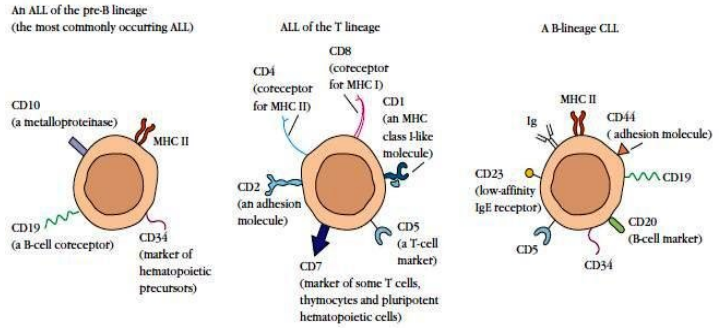
- تمرکز بالینی

- فلوسایتومتری و تشخیص لوسمی

لوسمی، تکثیر کنترل نشده یک کلون غیرطبیعی سلول‌های خونساز می‌باشد. لوسمی می تواند در هر مرحله بلوغ و از هر دودمان سلولی ایجاد شود. لوسمی‌های لنفوئیدی بسیاری از خصوصیات رده لنفوئید را دارا می‌باشند و لوسمی‌های میلوئیدی دارای خصوصیات رده میلوئیدی می‌باشند. گذشته از دودمان سلولی، لوسمی را می‌توان بصورت حاد یا مزمن نیز طبقه‌بندی نمود. لوسمی لنفوئید حاد (ALL) شایع‌ترین لوسمی دوران کودکی، لوسمی میلوئید حاد (AML)، بیشتر در بالغین دیده شده و لوسمی لنفوئید مزمن (CLL) شایع‌ترین شکل لوسمی بالغین در غرب می‌باشد. لوسمی میلوئید مزمن (CML) بیشتر اوقات در افراد مسن به چشم می‌خورد.

1- immunoelectron microscopy

www.bbooks.ir



تشخیص لوسمی، برپایه شناسایی سلول‌های غیر طبیعی در گردش خون و مغز استخوان می‌باشد و انتخاب مناسب‌ترین درمان نیازمند شناخت نوع لوسمی می‌باشد. با توجه به این امر، دو سئوال پیش می‌آید: (۱) دودمان سلول غیر طبیعی چیست؟ (۲) در چه مرحله‌ای از بلوغ می‌باشد؟ یکی از قدرتمندترین روش‌ها جهت پاسخ به این سئوالات، تعیین فنوتایپ ایمنی (ایمونوفنوتایپینگ) می‌باشد. الگوی آنتی‌ژن‌های سطحی عرضه شده، رده سلولی را مشخص کرده و در تعیین مرحله بلوغ سلول‌های لوسمیک مفید می‌باشند. دقیق‌ترین و کارآمدترین فناوری جهت تعیین فنوتایپ ایمنی، استفاده از فلوسایتومتری و آنتی‌بادی‌های منوکلونال می‌باشد. در دسترس بودن آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی برای هر آنتی‌ژن موجود روی انواع مختلف سلول‌های خونساز، شناسایی الگولی عرضه آنتی‌ژنی که ویژه رده سلول، مراحل بلوغ و برخی انواع متفاوت لوسمی می‌باشد را امکان‌پذیر ساخته است. بیشتر مراکز سرطان به فلوسایتومترهایی مجهز می‌باشند که با انجام و تفسیر تحلیل‌های چند پارامتری قادرند الگوی شاخص‌های سطحی جمعیت‌های سلول توموری را تشخیص دهند. تعیین فنوتایپ ایمنی با استفاده از فلوسایتومتری، موارد زیر را امکان‌پذیر می‌سازد:

- تصدیق تشخیص
- تشخیص، زمانی که قضاوت صحیحی را نمی‌توان براساس مورفولوژی یا الگوهای رنگ‌آمیزی سیتوشیمیایی ارائه داد.

www.bbooks.ir

- شناسایی الگوهای آنتی‌ژنی نا به جا که می‌تواند به شناسایی عود لوسمی پس از درمان کمک کند.
- مسیر بهبودی در طول درمان بیماری

توزیع شاخص‌های انتخابی روی برخی از سلول‌ها لوسمیک (شکل زیر) الگوی آنتی‌ژن‌های سطحی تعداد زیادی از ALLها و CLLها را نشان می‌دهد.

- خلاصه

- واکنش آنتی‌ژن-آنتی‌بادی به ۴ نوع برهمکنش غیر کووالان: پیوندهای هیدروژنی، پیوندهای یونی، پیوندهای آبگریز و پیوندهای واندروالس بستگی دارد.
- ثابت میل پیوندی را که می‌توان با تحلیل اسکچارد تعیین نمود، که معیار کمّی قدرت برهمکنش میان یک اپی‌توپ از آنتی‌ژن با تنها یک جایگاه اتصال آنتی‌بادی می‌باشد. میل پیوندی تام، قدرت کلی بر همکنش‌های میان یک مولکول آنتی‌بادی چند ظرفیتی و یک مولکول آنتی‌ژن چند ظرفیتی در چندین جایگاه را نشان می‌دهد.
- تشدید پلاسمونی سطحی(SPR) توصیف میل پیوندی و سرعت واکنش‌های Ag-Ab را امکان‌پذیر می‌سازد.
- برهمکنش میان یک آنتی‌ژن محلول و آنتی‌بادی رسوب دهنده در یک محیط مایع یا ژل، رسوب Ag-Ab را تشکیل می‌دهد. الکتروفورز را می‌توان به همراه رسوب در ژل برای ایجاد روشی با نام الکتروفورز ایمنی ترکیب نمود.
- برهمکنش میان یک آنتی‌ژن ذره‌ای و آگلوتینین، تجمع قابل مشاهده‌ای را ایجاد می‌کند (آگلوتیناسیون) که اساس آزمون‌های ایمنی ساده، سریع و حساس را تشکیل می‌دهد.
- RIA روش کمی و بسیار حساس می‌باشد که از Ag یا Ab نشاندار با رادیواکتیو استفاده می‌کند.

www.bbooks.ir

- الایزا به واکنش سوبسترا- آنزیم که سبب ایجاد محصول رنگی می‌شود بستگی دارد. آزمون‌های الایزایی که به جای واکنش رنگ‌زا از کمی لومینسانس بهره می‌گیرند، حساس‌ترین آزمون‌های ایمنی کنونی هستند.
- در لکه‌گذاری وسترن، یک مخلوط پروتئینی توسط الکتروفورز تفکیک شده و سپس نوارهای پروتئینی به صورت الکتروفورزی به نیتروسلولز منتقل شده و توسط Ag یا Ab نشاندار شناسایی می‌شوند.
- میکروسکوپ فلورسنت که از Ab نشاندار با مواد فلورسنت بهره می‌گیرد را می‌توان برای مشاهده Ag در داخل یا سطح سلول به کار برد.
- فلوسایتومتری، تکنولوژی قدرتمندی می‌باشد که امکان تحلیل کمی و جداسازی جمعیت‌های سلولی نشاندار با یک یا چند آنتی‌بادی فلورسنت را فراهم کرده است.

- سئوالات درسی

۱-کدام یک از جملات زیر درست و کدام یک نادرست می‌باشد؟ در صورتی که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

الف) ایمونوفلورسنت غیرمستقیم بسیار حساس‌تر از ایمونوفلورسنت مستقیم می‌باشد.

ب) اغلب آنتی‌ژن‌ها پاسخ پلی‌کلونال ایجاد می‌کنند.

پ)آنتی‌بادی ضد SRBC هضم شده با پاپائین، می‌تواند SRBC را آگلوتینه کند.

ت)آنتی‌بادی ضدSRBC هضم شده با پپسین می‌تواند SRBC را آگلوتینه کند.

ث) ایمونوفلورسنت غیر مستقیم را می‌توان با استفاده از قطعه Fab به عنوان Ab غیرنشاندار اولیه انجام داد.

ج) برای ایجاد رسوب باید هر دوی Ag و Ab چند ظرفیتی باشند.

www.bbooks.ir

چ) تحلیل جمعیت سلولی توسط فلوسایتومتری را می‌توان همزمان برای بررسی در مورد توزیع، اندازه و الگوی آنتی‌ژنی جمعیت سلولی حاوی چندین نوع سلول متفاوت انجام داد.

۲- شما نمونه‌ای خالص از سرم آلبومین گاوی (BSA) تهیه کرده‌اید. برای تعیین این که آیا پروتئین سرمی دیگری در این نمونه BSA باقی مانده است یا خیر، تصمیم به استفاده از ایمونوالکتروفورز می‌گیرید.

الف) برای ساخت آنتی‌سرم جهت شناسایی BSA، از چه آنتی‌ژنی استفاده خواهید کرد؟

ب) با فرض این که نمونه BSA خالص است، الگوی ایمونوالکتروفورز مورد انتظار را رسم کنید.

۳- برچسب روی چهار بطری (A، B، C و D)حاوی کونژوگه‌های هاپتن – حامل، تصادفاً برداشته می‌شوند. با این حال می‌دانیم که هر بطری حاوی (۱) هاپتن ۱- حامل۱ (H1-C1) ، (۲) هاپتن ۱- حامل ۲(H1-C2)، (۳) هاپتن۲ – حامل ۱ (H2-C1) یا (۴) هاپتن ۲- حامل ۲(H2-C2) است. حامل ۱ وزن مولکولی ۶۰۰۰۰ دالتون و حامل ۲ وزن مولکولی ۱۲۰۰۰۰ دالتون دارد. فرض کنید شمایک Ab ضد H1 و یک Ab ضد H2 و شاخص با وزن ۱۰۰۰۰۰ دالتون در اختیار دارید. با استفاده از لکه‌گذاری وسترن محتوی هر بطری را تعیین کنید و لکه‌گذاری وسترن به دست آمده از ۱، ۲، ۳، ۴ را نشان دهید.

۴- غلظت بسیار کم (۲۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) یک هاپتن بوسیله کدام یک از آزمون‌های زیر قابل شناسایی است؟

الف) الایزای رنگ‌زا
ب) روش اخترلونی
پ)RIA
ت) میکروسکوپ فلورسانس
ث) فلوسایتومتری
ج) میکروسکوپ الکترونی

www.bbooks.ir

چ) رسوب ایمنی ح) آزمون ELISPOT

خ) ELISA لومینسانس

۵- شما یک پروتئین میلوما (x) که ایزوتایپ آن ناشناخته است و همچنین چندین پروتئین میلومای دیگر از ایزوتایپ‌های شناخته شده در اختیاردارید

الف) چطور می‌توانید آنتی‌بادی‌های اختصاصی ایزوتایپ برای شناسایی ایزوتایپ (x) تولید کنید؟

ب) چطور می‌توانید با استفاده از این آنتی‌بادی ضد ایزوتایپ میزان پروتئین x در سرم افراد طبیعی را تعیین کنید؟

۶- برای هر کدام از آنتی‌بادی‌ها یا آنتی‌ژن‌های زیر، یک آزمون مناسب و یک معرف ضروری را نشان دهید. حساسیت هر آزمون و غلظت مورد انتظار هر پروتئین را در نظر داشته باشید.

الف) IgG سرمی

ب) انسولین سرمی

پ) IgE سرمی

ت) جزء C3 کمپلمان روی غشای پایه گلومرولی

ث) آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن A

ج) میزان استفاده از گوشت اسب در همبرگرها

چ) اسپیروکت عامل سیفلیس در اسمیر حاصل از شانکر

۷-کدام یک در تشکیل مجموعه Ag-Ab شرکت نمی‌کنند؟

الف) پیوندهای آبگریز ب) پیوندهای کووالانسی

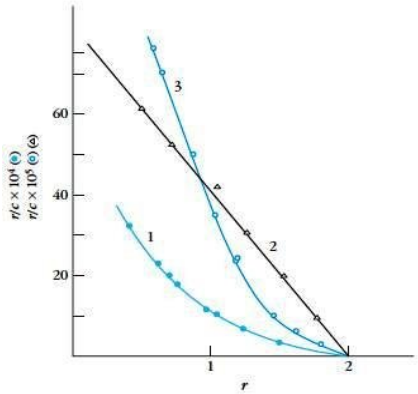
پ)برهمکنش‌های الکتروستاتیک ت) پیوندهای هیدروژنی

ث) نیروهای واندروالس

۸- تفاوت میان میل پیوندی و میل پیوندی تام آنتی‌بادی را توضیح دهید.

www.bbooks.ir

۹- شما می‌خواهید یک آزمون ایمنی حساس برای هورمونی که غلظت آن در خون حدوداً $10^{-7}M$ است تولید کنید. به شما سه آنتی‌سرم متفاوت که میل پیوندی آنها برای هورمون توسط دیالیز تعادلی مشخص شده است، پیشنهاد می‌شود. نتایج در طرح اسکچارد زیر نشان داده شده است.



الف) مقدار Ko هر کدام از آنتی‌سرم‌ها چقدر است؟

ب) ظرفیت هریک از آنتی‌بادی‌ها چقدر است؟

پ) کدام یک از آنتی‌بادی‌ها می‌تواند منوکلونال باشد؟

ت) کدام یک از آنتی‌سرم‌ها را برای آزمون خود استفاده می‌کنید؟ چرا؟

۱۰- برای نمایش در یک کلاس ایمنی‌شناسی، آموزگار آنتی‌بادی‌های IgG ضد SRBC را خالص کرد و برخی از آنها را به Fab، Fc، F(ab')2 هضم نمود. او هر نمونه را در لوله‌ای جدا قرار داده و هر لوله را با ماژیک علامت‌گذاری نمود و آنها را در یک فلاسک یخ گذاشت. وقتی آموزگار در زمان تشکیل کلاس، بازگشت، مشاهده کرد که برچسب‌ها کثیف و غیرقابل خواندن شده‌اند. او برای استفاده مجدد از آنها، لوله‌ها را با شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ شماره‌گذاری کرد و کار خود را ادامه داد. با توجه به نتایج زیر نشان دهید که هر لوله حاوی چه نمونه‌ای است.

www.bbooks.ir

الف) نمونه لوله ۱، SRBCها را آگلوتینه کرده ولی در حضور کمپلمان آنها را لیز نکرد.

ب) نمونه لوله ۲، SRBCها را آگلوتینه یا در حضور کمپلمان لیز نکرد. با این حال وقتی این نمونه به SRBCها اضافه شد(قبل از اضافه شدن anti-SRBC کامل) از آگلوتیناسیون سلول‌های جلوگیری کرد.

پ) نمونه لوله ۳، SRBCها را آگلوتینه کرد و در حضور کمپلمان سبب لیز آنها گشت.

ت)نمونه لوله ۴، نمونه‌ها را لیز و آگلوتینه نکرد و از آگلوتینه کردن سلول‌ها توسط anti-SRBC کامل نیز ممانعت به عمل نیاورد.

۱۱- معادله ۱ را در نظر گرفته و معادله اسکچارد که در معادله ۲ نشان داده شده است را از آن نتیجه بگیرد.

۱) S+ L =SL ۲) B/F=Ka([S]t-B)

S= جایگاه اتصال آنتی‌بادی [S]= غلظت مولار جایگاه‌های اتصال آنتی‌بادی

L= لیگاند [L]= غلظت مولار لیگاند SL= مجموعه لیگاند- جایگاه

[SL]= غلظت مولار جایگاه لیگاند B= سوبسترای SL F= سوبسترای L

۱۳- شما در تابستان برای تأمین هزینه‌های خود، کاری در یک آزمایشگاه بالینی گرفته‌اید. یک کیت الایزای غیر مستقیم برای تشخیص Abضد Hantavirus در سرم بیماران، سفارش داده‌اید، اما وقتی کیت به دست شما می‌رسد، هیچ بروشوری در آن وجود ندارد و فقط لوله‌ها یا معرف A، B و ..... برچسب خورده‌اند.

الف) کدام یک از موارد زیر جزو معرف‌های موجود در کیت برای راه‌اندازی این آزمون مورد نیاز است؟

(۱) آنتی‌ژن محلول کنترل مثبت (۲) آنتی‌بادی اولیه برای Hantavirus

www.bbooks.ir

(۳) سوبسترا (۴) آنتی‌بادی ثانویه نشاندار با آنزیم (ضدآنتی‌بادی اولیه)

(۵) آنتی بادی ثانویه نشاندار با آنزیم (ضد ویروسی) (۶) پلیت پوشیده شده با آنتی‌ژن

ب) با استفاده از کیت، شما نتایجی برای سرم سر بیمار بدست آورده‌اید(P1-P3 در جدول). تیترهای سرم این بیماران چقدر است؟ کدام یک با ویروس برخورد داشته است؟

Blank	- Control	+ Control		1:1	1:10	1:100	1:1000	1:10,000	1:100,000
0.001	0.103	0.857	P1	1.002	0.562	0.352	0.202	0.096	0.005
0.006	0.056	0.952	P2	0.002	0.005	0.008	0.002	0.004	0.001
0.005	0.096	0.903	P3	0.568	0.203	0.086	0.079	0.082	0.045

۱۳- یک سویه جدید از آنفولانزا کشف شده است که به دلیل سرعت بالای انتقال، تعداد زیادی از مردم را آلوده کرده است. برای ارزیابی شدت انتشار عفونت شما آزمون می‌کنید که آیا میانگین شهروندان، آنتی‌بادی‌هایی که می‌توانند با Agهای آنفولانزا واکنش متقاطع بدهند را بیان می‌کنند یا خیر. ابتدا Agهای سطحی جدا شده از سویه آنفولانزا را روی شیارهای ژل SDS-PAGE قرار می‌دهید. یکی از شیارها با یک رنگ غیر اختصاصی آبی‌کوماسی (سمت چپ شکل)رنگ می‌شود. شیارهای باقی مانده با الکتروفورز با نیتروسلولز انتقال می‌یابند و به صورت نوارهایی بریده می‌شود به طوری که هر نوار با سرم نرمال افراد داوطلب به عنوان آنتی‌بادی اولیه برای لکه‌گذاری وسترن انکوبه شود. نتایج آزمایش نشان داده شده‌است. با توجه به این نتایج، آیا شما از جانب سویه جدید آنفولانزا با یک بحران سلامت روبرو هستید؟

۱۴- مشاور تحقیقاتی شما یک پذیرنده جدید که گمان می‌رود در ایجاد بیماری آلزایمر مهم می‌باشد را کشف کرده است. سایر اعضای آزمایشگاه،گیرنده را کلون کرده و رده‌های سلولی را با این ژن برای مطالعه بیشتر آلوده کرده‌اند. وظیفه شما انتخاب

www.bbooks.ir

سلول‌های آلوده و بیان‌کننده ژن و انتخاب جمعیتی است که بیان بالایی از این ژن را دارند. شما یک Ab خرگوشی برای گیرنده، یک Ab موشی(برای کنترل سلول‌های غیرآلوده)، Ab برای ضد Ab موشی و کونژوگه با فلورسئین و Ab الاغی ضد Ab خرگوشی و کونژوگه با رودامین در اختیار دارید.

الف) توضیح دهید که چگونه یک آزمایش FACS را ترتیب می‌دهید.

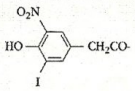
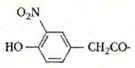
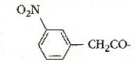
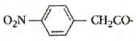
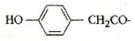
ب)یک هیستوگرام FACS را از نتایج قابل انتظار خود رسم کنید. در محور x میزان فلورسئین و در محور y میزان رودامین را نشان دهید.

۱۵- فواید استفاده از ELISPOT در مقایسه با الایزای ساندویچی چیست؟ شباهت‌ها و تفاوت‌های آنها را نام ببرید.

تحلیل داده‌ها: کانایاما و همکارانش موش‌های ترانس ژنیکی ساخته‌اند (موش QM) که اکثر BCRهای آن از زنجیره سنگین حاوی $V_H17.2025$ و زنجیره‌های سبک λ1 یا λ2 ساخته شده‌اند. این پذیرنده برای هاپتن ۴- هیدروکسی ۳- نیتروفنیل استیل (NP) اختصاصی است.

این محققان ارتباط میل پیوندی این سلول‌های B را با سایر هاپتن‌های مرتبط با NP با استفاده از آزمون مهار رقابتی که در جدول زیر آمده است را بدست آورده‌اند. آنها همچنین این موش‌های QM را با استفاده از PNP-CGC (گلبولین جوجه) ایمن کرده و سپس خون موش‌ها را در فواصل مختلف گرفتند. براین اساس به پرسش‌های زیر پاسخ دهید.

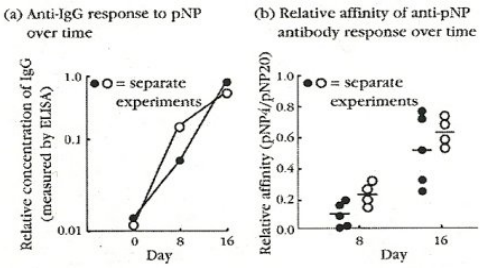
www.bbooks.ir

DNP ligand		IC_{50} (M)
NIP		2×10^{-5} (15)
NP		3×10^{-4} (1)
mNP		3×10^{-4} (1)
pNP		6×10^{-3} (0.05)
HP		No inhibition

الف) درست یا نادرست: این ایدیوتایپ برای هاپتن NP اختصاصی است. بنابراین پذیرنده Ig همیشه بیشترین میل پیوندی را برای NP در مقایسه با سایر هاپتن‌های مرتبط خواهد داشت.

ب) آیا در پاسخ به ایمن‌سازی، تعویض رده اتفاق می‌افتد؟ توضیح دهید.

پ) دو مرحله دخیل در نتایج نشان داده شده در نمودار b کدامند؟



ت)سلول‌های B موش‌های QM زنجیره‌های سبک λ را بیان کرده‌اند. شما در مورد وقایع صورت گرفته در مرحله تمایز Pre-B-Cell به B-Cell که منجر به تولید آنتی‌بادی با زنجیره‌های سبک شده، چه می‌توانید بگویید؟

ث) آیا سلول‌های B عرضه کننده IgM با زنجیره سنگین V_H17.2.25 و زنجیره سبک λ1 دارای ایدیوتایپ مشابه با سلول‌های B عرضه کننده IgG با زنجیره V_H 17.2.25 و زنجیره سبک λ2 است؟

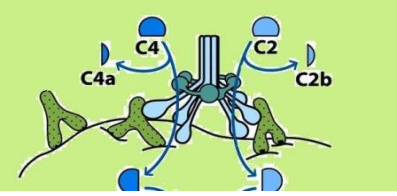
www.bbooks.ir

فصل هفتم

سیستم کمپلمان

- اعمال کمپلمان
- اجزای کمپلمان
- فعال‌سازی کمپلمان
- تنظیم سیستم کمپلمان
- نتایج زیستی فعال شدن کمپلمان
- نقایص کمپلمان

www.bbooks.ir



سیستم کمپلمان یکی از بازوهای اجرایی اصلی سیستم ایمنی هومورال می‌باشد. تحقیقات در مورد کمپلمان از سال ۱۹۸۰آغاز شد، وقتی که جولز بورده در انستیتو پاستور در پاریس نشان داد که آنتی‌سرم گوسفندی علیه باکتری *ویبریوکلرا* موجب لیز باکتری و گرمادادن آنتی‌سرم سبب از بین رفتن این فعالیت می‌شود. به طور شگفت انگیزی توانایی سرم گرمادیده در لیزباکتری، پس از اضافه نمودن سرم تازه (که فاقد آنتی‌بادی ضد باکتری بود و به تنهایی نمی‌توانست باکتری را لیز کند) بازگشت. بورده درست تشخیص داده بود که فعالیت باکتریولیتیک، نیازمند دو ماده مختلف است: اول ، آنتی‌بادی اختصاصی ضد باکتری و دوم ترکیبی حساس به حرارت که مسئول فعالیت لایتیک می‌باشد. بورده آزمونی ساده با نام **همولیز** برای تعیین فعالیت لایتیک، تعبیه نمود. به طور جداگانه پاول ارلیش در برلین آزمایش‌های مشابهی را انجام داد و واژه *کمپلمان*[1] را اختراع کرد. در سال‌های پس از آن، محققان کشف کردند که فعالیت لایتیک کمپلمان در نتیجه برهمکنش گروه پیچیده‌ای از پروتئین‌ها می‌باشد. بعدها نشان دادند که نتایج فعالیت کمپلمان فراتر از لیز با واسطهٔ آنتی‌بادی است و کمپلمان نقش کلیدی در هر دو ایمنی ذاتی و اکتسابی بازی می‌کند.

یکی از جنبه‌های مهم فعالیت کمپلمان، موقعیت آن در سیستم ایمنی ذاتی می‌باشد. اگر چه کشف کمپلمان و اکثر بررسی‌های اخیر، فعالیت کمپلمان را به دنبال اتصال آنتی‌بادی و مرتبط با آن می‌دانند، ولی نقش اصلی این سیستم شناسایی و تخریب پاتوژن ها بیشتر براساس شناسایی الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMP)می‌باشد. چندین پروتئین سرمی در حال گردش می‌توانند سبب آغاز فعالیت آبشار کمپلمان شوند. این مولکول‌ها،

1- Complement

www.bbooks.ir

پروتئین‌های فاز حاد نامیده می‌شوند و دارای توانایی شناخت الگوها بوده و در پی التهاب، غلظت آنها تغییر می‌کند. این فصل، اجزای سیستم کمپلمان، فعال شدنشان را از طریق سه مسیر اصلی، تنظیم سیستم کمپلمان، فعالیت‌های اجرایی سیستم کمپلمان و نتایج بالینی نقص در کمپلمان را توصیف می‌کند.

- عملکرد کمپلمان

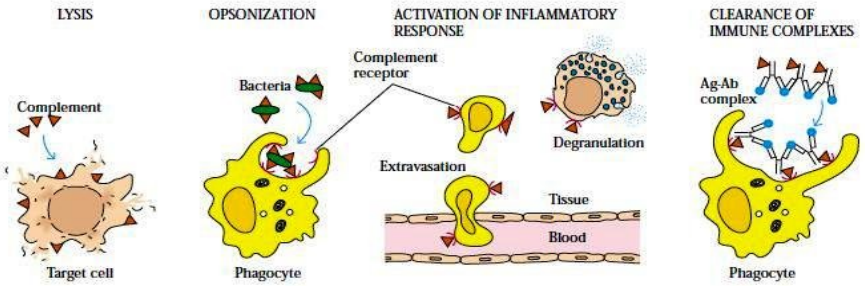
تحقیقات در مورد کمپلمان منجر به شناسایی شمار بیشتری از پروتئین‌های محلول،و متصل به غشأ گردید. فعالیت زیستی این سیستم بر روی سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی تأثیر گذاشته و فعالیتی فراتر از لیز باکتری یا گلبول‌های قرمز با واسطهٔ آنتی‌بادی دارد. شباهت ساختاری پروتئین‌های درگیر در مسیرهای کمپلمان، منشأ این سیستم را به ارگانیسم‌های بی‌مهره نسبت می‌دهد. ارگانیسم‌های چند سلولی اولیه فاقد اجزای سیستم اکتسابی و حاوی پروتئین‌های مرتبط با سیستم کمپلمان می‌باشند. در مقایسه، واکنش پذیرنده‌های سلولی با پروتئین‌های کمپلمان ، می‌تواند منجربه فعال شدن سلول‌های B شود که نقش این سیستم را در سیستم پیشرفته ایمنی اکتسابی آشکار می‌کند. بنابراین ما در گونه‌های مهره‌داران، سیستمی داریم که ایمنی ذاتی و اکتسابی را گسترش داده و از طرق مختلف با یکدیگر همکاری می‌کنند.

بعد از فعال شدن اولیه ،اجزای مختلف کمپلمان، در یک آبشار کاملاً تنظیم شده برای انجام عملکردهای اساسی با یکدیگر واکنش می‌دهند (شکل ۱-۷). این عملکرد شامل موارد زیر می‌باشد:

- لیز سلول‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها
- اپسونیزاسیون که فاگوستیوز آنتی‌ژن‌های ذره‌ای را افزایش می‌دهد.

www.bbooks.ir

- اتصال به پذیرنده‌های اختصاصی اجزای کمپلمان بر روی سلول‌های سیستم ایمنی که موجب راه‌اندازی عملکردهای اخصاصی سلول،التهاب و ترشح مولکول‌های تنظیمی ایمنی می‌شود.
- پاکسازی ایمنی، که مجموعه‌های ایمنی را از گردش خون جمع‌آوری کرده و آنها را به کبد و طحال می‌سپارند.



شکل ۱-۷: فعالیت چندگانه سیستم کمپلمان. پروتئین های سرمی کمپلمان و پذیرنده های متصل به غشای کمپلمان دارای چندین فعالیت ایمنی می باشند.

- اجزای کمپلمان

پروتئین‌های محلول و گلیکوپروتئین‌هایی که سیستم کمپلمان را تشکیل می‌دهند، اساساً توسط سلول‌های کبدی ساخته می‌شوند. هر چند که مقادیر قابل توجهی نیز توسط منوسیت‌های خون، ماکروفاژهای بافتی و سلول‌های اپی‌تلیال مجاری گوارشی و تناسلی تولید می‌گردند. اجزای کمپلمان ۵٪ وزن بخش گلبولین‌های سرمی را تشکیل می‌دهند. اکثراً در سرم از نظر عملکردی غیر فعال و به شکل پروآنزیم یا *زیموژن*[1] می‌باشند تا زمانی که شکست پروتئولیتیک، سبب حذف یک قطعهٔ ممانعت کننده شود و جایگاه فعال مولکول در معرض قرار گیرد.

1- zymogen

www.bbooks.ir

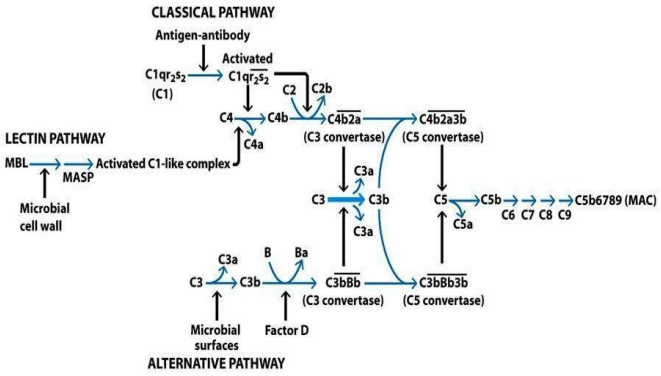
اجزای کمپلمان به صورت شماره‌ای (C1-C9)، حروفی (فاکتور D) یا نام‌های مرسوم (فاکتور محدود کنندهٔ همولوگ) نشان داده می‌شوند. قطعات پپتیدی تشکیل شده در اثر فعالیت کمپلمان، با حروف کوچکی مشخص می‌شوند. در اکثر موارد، قطعات کوچک حاصل از شکست اجزای کمپلمان را با حرف a و قطعات بزرگ را با حروف b نمایش می‌دهند (C3b, C3a ، توجه کنید که C2 یک استثنا بوده و C2a قطعه بزرگتر می‌باشد). قطعه بزرگتر (در نزدیکی محل فعال شدن) به هدف اتصال می‌یابد و قطعه کوچک‌تر از آن محل انتشار یافته و می‌تواند با اتصال به پذیرنده‌های خاص، پاسخ التهابی موضعی را به راه اندازد. قطعات کمپلمان برای تشکیل کمپلکس‌های اجرایی با یکدیگر واکنش می‌دهند. کمپلکس‌هایی که خاصیت آنزیمی دارند، بوسیلهٔ خطی بالای اعداد و حروف ($\overline{C4b2a}$, $\overline{C3bBb}$) مشخص می‌شوند.

- فعال سازی کمپلمان

(شکل ۲-۷) مسیرهای اصلی فعال‌شدن کمپلمان را نشان می دهد. مراحل ابتدایی می‌توانند توسط **مسیر کلاسیک**[1]، **آلترناتیو**[2] و یا **مسیر لکتین**[3] صورت گیرند. مراحل انتهایی که منجر به تشکیل کمپلکس حمله به غشا (MAC) می‌شوند، در تمام مسیرها یکسان می‌باشند.

1- classical pathway
2- alternative pathway
3- lectin pathway

www.bbooks.ir



شکل ۲-۷: مروری بر مسیرهای فعال سازی کمپلمان. مسیر کلاسیک با اتصال C1 به مجموعه Ag-Ab آغاز می شود. مسیر فرعی کمپلمان با اتصال همزمان C3b به سطوح فعال کننده مثل دیواره های سلولی باکتریایی شروع می شود. مسیر لکتین با اتصال پروتئین سرمی MBL به سطح یک پاتوژن آغاز می گردد. هر سه این مسیرها تبدیل کننده های C3 و C5 را به وجود می آورند که در نتیجه، C5b تولید می شود که در نهایت با یک سری واکنش ها به MAC تبدیل می شود.

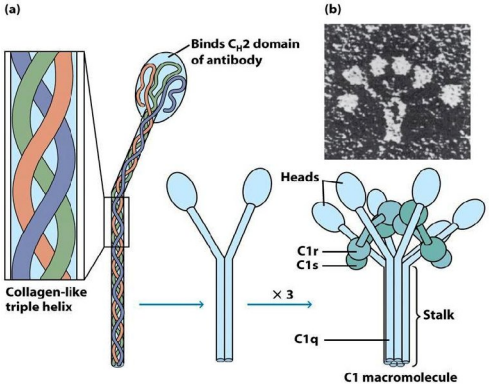
- فعال شدن مسیر کلاسیک با اتصال آنتی‌ژن به آنتی‌بادی آغاز می‌گردد

فعال سازی کمپلمان توسط مسیر کلاسیک عموماً با تشکیل مجموعه‌های آنتی‌ژن–آنتی‌بادی محلول یا با اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن روی یک هدف مناسب مثل سلول باکتریایی آغاز می‌شود. IgM و زیر رده‌های خاصی از IgG (IgG1-2,3) می‌توانند کمپلمان را از مسیر کلاسیک فعال کنند. در مرحلهٔ ابتدایی فعال‌سازی، اجزای C1 ، C2 ، C3، C4 که به صورت غیر فعال در سرم وجود دارند، دخیل می‌باشند.

تشکیل مجموعهٔ ایمنی باعث القای تغییر در آرایش فضایی بخش FC مولکول IgM می‌شود که سبب نمایان شدن جایگاه اتصال برای جزء C1کمپلمان می‌گردد. C1 موجود در سرم، ماکرومولکولی متشکل از C1q، دو مولکول C1rو دو مولکول C1s می‌باشد که در کمپلکس Clqr2s2 توسط یون‌های کلسیم پایدار شده و در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. مولکول C1q از ۱۸ زنجیره پلی پپتیدی (شش بازوی مارپیچی سه تایی شبه کلاژن) تشکیل

www.bbooks.ir

شده است. نوک این بازوها به جایگاه اتصال C1qدر دومن CH2مولکول آنتی‌بـادی متصـل می‌شوند (شکل ۳-۷).



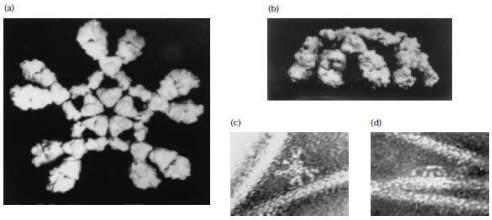
شکل ۳-۷: ساختار مجموعه ماکرومولکولی C1 (a) مولکول C1q حاوی ۱۸ زنجیره پلی پپتیدی در ۶ مارپیچ سه تایی (A، B و C) شبه کلاژن می باشد. گروه سر هر یک از این مارپیچ های سه تایی حاوی عناصری از هر سه زنجیره می باشند. در ماکرومولکول C1، C1q با دو مولکول C1r و C1s واکنش می دهد. هر یک از منومر های C1r و C1s حاوب دومن های کاتالیتیکی با خاصیت آنزیمی و یک دومن واکنش دهنده می باشند که اتصال با C1q یا هر عامل دیگری را تسهیل می کنند. (b) میکروگراف الکترونی از مولکول C1q که ۶ سر کروی را در آن نشان می دهد.

هر منومر C1rو C1s دارای یک دومن کاتالیتیک و یک دومن واکنش دهنـده مـی‌باشـد. دومن اخیر، میانکنش با C1q یا یکدیگر را تسهیل می‌کند.

هر کمپلکس C1 باید توسط سرهای کروی C1q خود، حداقل بـه دو جایگـاه Fc متصـل شود تا یک واکنش پایدار C1 – آنتی‌بادی رخ دهد. با اتصال IgM پنتامر به آنتـی‌ژن روی سطح هدف، حداقل سه جایگاه اتصال برای C1q نمایان می‌گـردد. بـا ایـن وجـود IgM در گردش، آرایش فضای مسطح داشته که در آن، جایگاه‌های اتصال C1q در معرض نیسـتند (شکل ۴-۷) و بنابراین، نمی‌تواند آبشار کمپلمان را فعال سازد. یک مولکول IgG تنها دارای یک جایگاه اتصال C1q بوده بنابراین اتصال محکم C1q تنها زمانی حاصل مـی‌شـود کـه دو

www.bbooks.ir

مولکول IgG در فاصله ۴۰-۳۰ نانومتری یکدیگر روی سطح هدف قرار داشته باشند. تا بتوانند دو جایگاه اتصال برای C1q فراهم کنند.



شکل ۴-۷: IgM پنتامر در اشکال (a) مسطح و (b) چهارپایه. میکروگراف الکترونی از آنتی بادی IgM ضد فلاژل که شکل مسطح آنتی بادی (c) و شکل چهار پایه (d) را نشان می دهد.

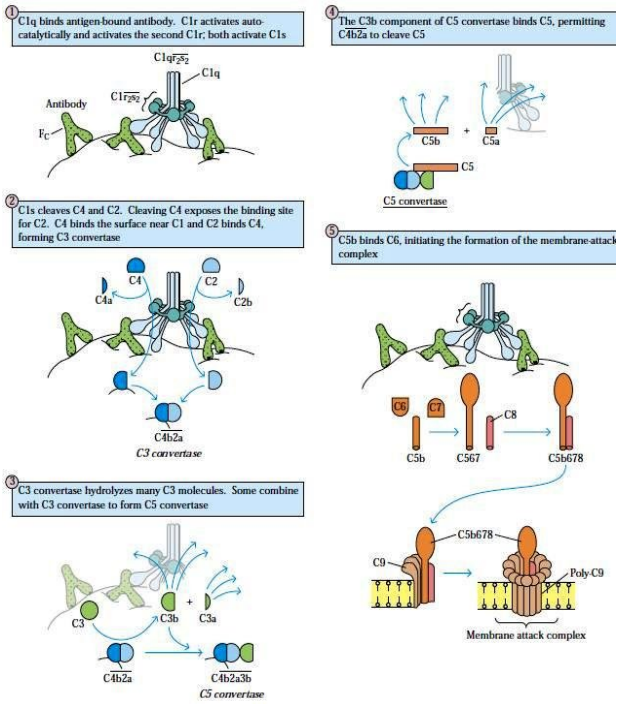
اجزای واسطه در فعال‌سازی مسیر کلاسیک، به طور شماتیک در شکل ۵-۷ نشان داده شده‌اند.

اتصال C1q به جایگاه‌های اتصال Fc مسبب تغییر آرایش فضایی C1rشده و آن را به یک سرین پروتئاز فعال ($\overline{C1r}$) تبدیل می‌کند که سپس C1s را شکسته تا به آنزیم فعال مشابهی ($\overline{C1s}$) تبدیل گردد. C1s ، دو سوبسترا (C4,C2) دارد. جزء C4گلیکوپروتئینی حاوی سه زنجیره پلی پپتیدی α ، β و γ می‌باشد. هنگامی که C1s بر روی C4 اثر می‌کند. قطعه کوچکی از انتهای آمینی آن جدا شده ($\overline{C4a}$) و C4 فعال می‌شود و یک جایگاه اتصال در قطعه بزرگ‌تر (C4b) نمایان می‌گردد. قطعه C4b در مجاورت C1qبه سطح هدف متصل می‌شود. در این جایگاه، C2 توسط C1s مجاورش بریده می‌شود و قطعه کوچکتر (C2b) انتشار می‌یابد. کمپلکس C4b2aحاصل، **مبدل C3**[1] نامیده می‌شود. قطعه کوچک‌تر حاصل از برش C4 (C4a)یک **آنافیلاتوکسین**[2] بوده و به طور مستقیم در عملکرد لایتیک

1- C3 Convertase
2-anaphylatoxin

www.bbooks.ir

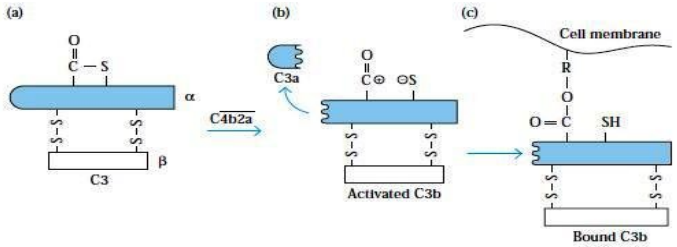
آبشار کمپلمان، شرکت نمی‌کند. آنا فیلاتوکسین‌ها که شامل قطعات کوچکتر C5, C4, C3 هستند در زیر توصیف می‌شوند.



شکل مروری ۵-۷: دیاگرام شماتیکی از واسطه های موجود در مسیر کلاسیک فعال شدن کمپلمان. مجموعه حمله به غشا (MAC) منفذ بزرگی را در غشا به وجود می آورد.

جزء دست نخورده C3، از دو زنجیره پلی‌پپتیدی α و β تشکیل شده است. تجزیه یک قطعه کوچک ($\overline{C3a}$) از انتهای آمینی زنجیرهٔ α توسط مبدل $\overline{C3}$، $\overline{C3b}$ را تولید می‌کند. (شکل ۶-۷).

www.bbooks.ir



شکل ۶-۷: هیدرولیز C3 توسط مبدل C3

یک مولکول مبدل C3 به تنهایی می‌تواند بیش از ۲۰۰ مولکل C3b تولید کند که منجر به تکثیر قابل توجه C3b در این مرحله می‌گردد.

برخی از C3bها به $\overline{C4b2a}$ اتصال می‌یابند تا کمپلکس سه مولکولی $\overline{C4b2a3b}$ یا **مبدل C5**[1] تشکیل شود. جزء C3b این مجموعه به C5 اتصال یافته و آرایش فضایی آن را تغییر می‌دهد تا جزء $\overline{C4b2a}$، C5 را به C5a و C5b تبدیل کند. برخی از C3bهای تولید شده با $\overline{C4b2a}$ ترکیب نشده و انتشار می‌یابند ومجموعه‌های ایمنی و آنتی‌ژن‌های ذره‌ای را پوشانده و به عنوان یک اپسونین عمل می‌کنند.

- مسیر آلترناتیو، مستقل از آنتی‌بادی می‌باشد

مسیر آلترناتیو همانند مسیر کلاسیک، محصولات فعال مشابهی را تولید می‌کند، اما برای شروع این عمل به مجموعهٔ ایمنی نیاز ندارد. بدلیل عدم نیاز آنتی‌بای، مسیر آلترناتیو بخشی از ایمنی ذاتی محسوب می‌شود. در این مسیر اصلی فعال شدن کمپلمان، چهار پروتئین سرمی شامل C3 ، فاکتور B، فاکتورD و پروپردین[2] دخیل می‌باشند. فعال شدن مسیر آلترناتیو در اکثر موارد، توسط ترکیبات سطح سلولی که برای میزبان بیگانه هستند آغاز می‌گردد (جدول ۱-۷).

1- C5 convertase
2- properdin

www.bbooks.ir

TABLE 7-1 Initiators of the alternative pathway of complement activation
PATHOGENS AND PARTICLES OF MICROBIAL ORIGIN
Many strains of gram-negative bacteria
Lipopolysaccharides from gram-negative bacteria
Many strains of gram-positive bacteria
Teichoic acid from gram-positive cell walls
Fungal and yeast cell walls (zymosan)
Some viruses and virus-infected cells
Some tumor cells (Raji)
Parasites (trypanosomes)
NONPATHOGENS
Human IgG, IgA, and IgE in complexes
Rabbit and guinea pig IgG in complexes
Cobra venom factor
Heterologous erythrocytes (rabbit, mouse, chicken)
Anionic polymers (dextran sulfate)
Pure carbohydrates (agarose, inulin)
SOURCE: Adapted from M. K. Pangburn, 1986, in *Immunobiology of the Complement System*, G. Ross, ed., Academic Press, Orlando.

واسطه‌های مسیر آلترناتیو جهت تولید C5b ، به صورت شماتیک در (شکل ۷-۷) نشان داده شده‌اند.

در مسیر کلاسیک، C3 به سرعت توسط فعالیت آنزیمی مبدل C3 به C3a و C3b تبدیل می‌شود. در مسیر آلترناتیو، C3 سرمی مورد هیدرولیز خودبخودی آرام قرار گرفته و C3a و C3bرا تولید می‌کند. جزء C3b می تواند به آنتی‌ژن های سطحی بیگانه یا حتی به سلول‌های خود میزبان متصل شود (شکل C ۶-۷).

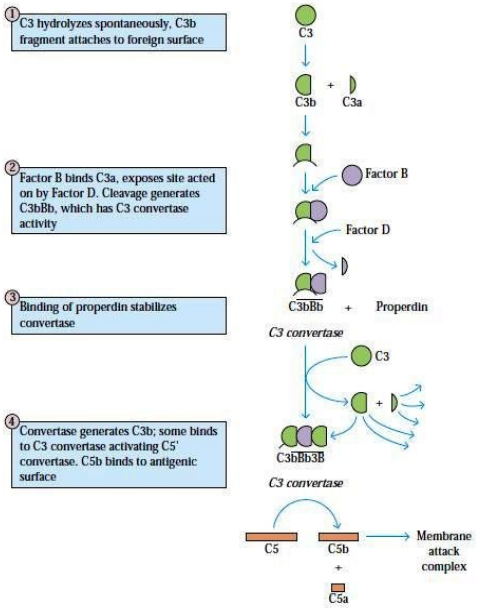
غشای بیشتر سلول‌های پستانداران مقادیر فراوانی اسیدسیالیک دارند که در غیر فعال‌سازی سریع مولکول‌های C3b متصل شده به سلول‌های میزبان شرکت می‌کنند. بدلیل این که آنتی‌ژن‌های سطحی اکثر سلول‌های بیگانه (مثل دیواره سلولی باکتری‌ها، دیواره سلولی مخمرها و پوشش‌های ویروسی) تنها مقادیر ناچیزی اسیدسیالیک دارند، C3b متصل

www.bbooks.ir

به این سطوح برای مدت طولانی‌تری فعال باقی می‌ماند و قادر خواهد بود به پروتئین سرمی دیگری به نام فاکتور B اتصال یافته و مجموعه‌ای پایدار شده توسط یون منیـزیم را تشـکیل دهد. اتصال به C3b جایگاهی را در فاکتور B نمایان می‌سازد و آن را به سوبسـترایی بـرای یک پروتئین فعال سرمی به نام فاکتور D تبدیل می‌سازد. فـاکتور D، فـاکتور B متصـل بـه C3b را برش می‌دهد. قطعه کوچک (Ba)آزاد مـی‌شـود و قطعـه بـزرگ $\overline{C3bBb(Bb)}$ را تولید می‌کند. مجموعه $\overline{C3bBb}$ داری فعالیت تبـدیل کننـدگی C3بـوده و بنـابراین معـادل $\overline{C4b2a}$ در مسیر کلاسیک می‌باشد. فعالیت $\overline{C3bBb}$ نیمه عمر محدودی داشته مگر آن که پروتئین پروپردین به آن متصل شود.

$\overline{C3bBb}$ تولید شده در مسیر آنترناتیو می‌تواند C3 هیدرولیز نشـده را بـرای تولیـد C3b بیشتر فعال کند. در نتیجه، مراحـل ابتـدایی، تکـرار شـده و در نتیجـه آن ۲×۱۰^{۶} مولکـول C3bتولید شده که در عرض کمتر از ۵ دقیقه روی یک سطح آنتـی‌ژن رسـوب مـی‌کننـد. فعالیت تبدیل کنندگی $\overline{C3bBb}$ باعث تولید مجموعه $\overline{C3bBb3b}$ شـده کـه مبـدل C5نـام داشته و معادل $\overline{C4b2a3b}$ مسیر کلاسیک می‌باشد. جزء غیر آنزیمی یا C3b به C5 اتصـال یافته و سپس جزء $\overline{C5}$، Bb را به C5a و C5b هیدرولیز می‌کند. (شکل ۷-۷).

www.bbooks.ir



شکل مروری ۷-۷: دیاگرام شماتیک واسطه های تشکیل C5b در مسیر فرعی فعال شدن کمپلمان.

- مسیر لکتین با اتصال پروتئین‌های میزبان به سطوح میکربی آغاز می‌گردد

لکتین‌ها، پروتئین‌هایی هستند که اهداف کربوهیدارتی خاصی را شناسایی و به آنها متصل می‌شوند. بدلیل این که لکتینی که کمپلمان را فعال می‌کند به بنیان‌های مانوز متصل می‌گردد، برخی محققان این مسیر را ، مسیر MBL یا **لکتین متصل شونده به مانوز**[1] نامیده‌اند. مسیر لکتین همانند مسیر آلترناتیو برای فعال شدن، به آنتی‌بادی وابسته نمی‌باشد. با این وجود مکانیسم آن بیشتر شبیه مسیر کلاسیک است، زیرا پس از شروع، از طریق فعالیت C2 وC4 پروتئین های فعال مسیرکمپلمان را تولید می‌کند (شکل ۲-۷).

مسیر لکتین با واسطه اتصال MBL به بنیان‌های مانوز گلیکوپروتئین‌ها یا کربوهیدارت‌های سطوح میکروارگانیسم‌ها فعال می‌شود. سلول‌های انسانی به طور طبیعی دارای بینان‌های

1- mannose binding lectin

www.bbooks.ir

اسید سیا لیک می باشندکه گروه‌های قندی شنا سایی شونده توسطMBL را می پوشانند و اهدافی برای اتصال نمی باشند.

MBL (عضوی از خانوادهٔ کلکتین‌ها) یک پروتئین فاز حاد می‌باشد و غلظت آن در طول پاسخ‌های التهابی افزایش می‌یابد و عملکرد آن در مسیر کمپلمان مشابه C1q می باشد (شکل ۳-۷).

پس از اتصال MBL به بنیان‌های کربوهیدراتی سطح یک سلول یا پاتوژن، **سرین پروتئازهای مرتبط با MBL**[1] (MASP2, MASP1) به MBL متصل می‌شوند. مجموعهٔ فعال حاصل از این تجمع، موجب شکست و فعال شدن C2 و C4می‌گردد. پروتئین‌های MASP1 و MASP2 از نظر ساختاری مشابه C1r و C1s بوده و فعالیت آنها را تقلید می‌کنند این شیوه‌های فعال سازیC2 و C4 به منظور تشکیل مبدل C5 بدون نیاز به اتصال با آنتی‌بادی اختصاصی، مکانیسم دفاعی ذاتی مهم قابل مقایسه‌ای را با مسیر آلترناتیو نشان می‌دهد ولی از عناصر مسیر کلاسیک (به استثنای C1) استفاه می‌کند.

- هر سه مسیر کمپلمان به تشکیل کمپلکس حمله به غشا ختم می‌شوند

C5b، C6 ، C7، C8 و C9 در توالی نهایی فعالیت کمپلمان دخیل می‌باشند که برای تشکیل یک ساختار ماکرومولکولی با نام **کمپلکس حمله به غشا**[2](MAC) به ترتیب با یکدیگر واکنش می‌دهند. این کمپلکس، کانال بزرگی در غشای سلول هدف ایجاد می‌کند و موجب انتشار آزادانه یون‌ها و مولکول های کوچک از خلال غشا می‌گردد.

پیامدهای نهایی مسیرهای کلاسیک، آلترناتیو یا لکتین، تولید یک مبدل C5 فعال می‌باشد. این آنزیم C5 را برش می‌دهد. پس از انتقال C5 به جزء غیر آنزیمی C3b در مبدل، انتهای آمینی زنجیرهα شکسته می‌شود و قطعات C5a و C5b (به سطح سلول هدف متصل شده و

1- MBL associated serine proteases
2- membrane attack complex

www.bbooks.ir

جایگاه اتصالی برای ترکیبات بعدی MAC را فراهم می‌کند) را تولید می‌کند (شکل ۵-۷). جزء C5b بی‌نهایت ناپایدار بوده و به سرعت غیر فعال می‌گردد. مگر آن که با اتصال به C6 پایدار شود.

با توجه به این نکته ، همه واکنش‌های کمپلمان در سطوح آبدوست غشاها یا در مجموعه‌های ایمنی و در فاز مایع انجام می‌گیرند. زمانی که C5b6 به C7متصل می‌شود، کمپلکس حاصل ساختاری بینابینی داشته و نواحی آبگریزی را نمایان می‌سازد که به عنوان جایگاه اتصال برای فسفولیپیدهای غشا عمل می‌کنند. اگر واکنش روی غشای سلول هدف انجام گیرد، جایگاه‌های اتصال آبگریز، کمپلکس C5b67 را قادر می‌سازد به داخل دو لایهٔ فسفولیپیدی نفوذ کنند. با این وجود اگر واکنش روی یک مجموعهٔ ایمنی یا سطح فعال غیر سلولی دیگری رخ دهد، جایگاه‌های اتصال آبگریز نمی‌توانند به کمپلکس متصل شده و آزاد می‌گردند. کمپلکس‌های رها شدهٔ C5b67، می‌توانند به داخل غشای سلول‌های مجاور وارد شده و واسطهٔ لیز ناظر بی‌گناه[1] گردند. در حالت طبیعی پروتئین‌های تنظیمی از این پدیده جلوگیری می‌کنند. اما، در بیماری‌های خاصی، لیزناظر بی‌گناه ممکن است موجب صدمه به سلول و یا بافت شود. یک اختلال همولیتیک ایجاد شده بواسطهٔ نقص در یک پروتئین تنظیمی در بخش تمرکز بالینی توضیح داده شده است.

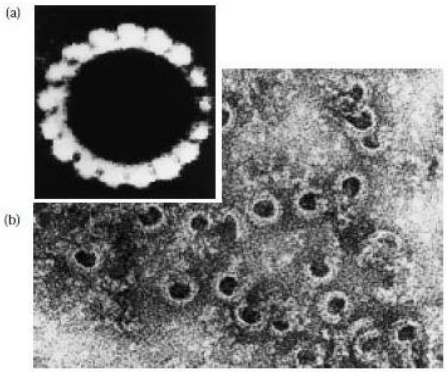
اتصال C8 به C5b67 متصل به غشا موجب القای تغییر آرایش فضایی در C8 گشته به طوری‌که نواحی آبگریز C8 نمایان شده و با غشای پلاسمایی واکنش می‌دهد. کمپلکس C5b678 سوراخ کوچکی با قطر ۱۰Å ایجاد می‌کند. تشکیل این سوراخ می‌تواند منجر به لیزگلبول‌های قرمز (نه سلول‌های هسته‌دار)گردد. مرحلهٔ نهایی در تشکیل MAC، اتصال C9 که یک مولکول شبه پرفورین است به کمپلکس C5b678 و پلیمریزه شدن آن می‌باشد.

در طی پلیمرایزاسیون، مولکول‌های C9 متحمل تغییر ساختار گردیده به طوری که می‌توانند به داخل غشا نفوذ کنند. MAC کامل که شکل استوانه‌ای و قطر سوراخ ۱۰۰Å-

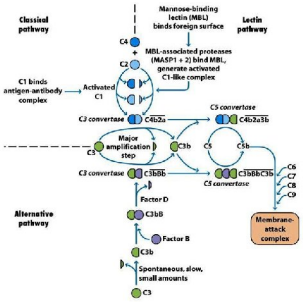
1- innocent bystander

www.bbooks.ir

۷۰ دارد، از یک مجموعهٔ Cb678 که توسط کمپلکس پلی C9 احاطـه شـده تشـکیل شـده است (شکل ۸-۷).



شکل ۸-۷: فوتومیکروگراف مجموعه پلی C9 که در آزمایشگاه توسط پلیمریزاسیون C9 به وجود می آید و حفره های ایجاد شده بر روی غشای یک گلبول قرمز که ناشی از تشکیل مجموعه حمله به غشا می باشند.



شکل ۹-۷: خلاصه ای از سه مسیر فعال شدن کمپلمان که نمایانگر آغاز این مسیرها با روند کلاسیک (اتصال C1q به مجموعه Ag-Ab) یا روند لکتین و یا فرعی (غیر وابسته به آنتی بادی) می باشد. در تمام این مسیرها، C3 به شکل فعال خود یعنی C3b در می آید که در تشکیل یک مبدل C5 شرکت می کند. با شکل گیری C5b تمام این مسیرها به تشکیل MAC می انجامند.

www.bbooks.ir

چون یون‌ها ومولکول‌های کوچک می‌توانند به طور آزادانه از مجرای مرکزی MAC عبور کنند، سلول قادر به حفظ پایداری اسموتیک خود نبوده و در اثر نفوذ آب و از دست دادن الکترولیت‌ها لیز می‌شود.

- تنظیم سیستم کمپلمان

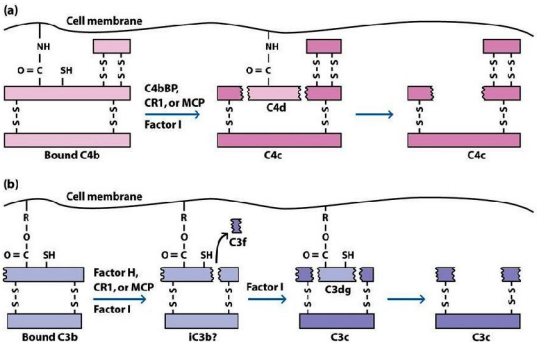
به دلیل این که اکثر عناصر سیستم کمپلمان قادر به حمله به سلول‌های میزبان هستند، برخی مکانیسم‌های تنظیمی در محدودسازی فعالیت کمپلمان علیه اهداف معینی، دخالت دارند. یک مکانیسم تنظیمی در تمام مسیرهای کمپلمان این است که اجزای بسیار ناپایدار در صورتی که بوسیلهٔ واکنش با اجزای دیگر پایدار نشوند به صورت خود به خودی غیر فعال می‌شوند. برای نمونه، فعالیت مبدل C3 تولید شده در مسیر آلترناتیو، نیمه عمری درحدود ۵ دقیقه دارد مگرآن که از طریق اتصال به پروپردین پایدار شود.تنظیم فعال کمپلمان بوسیله یک سری از پروتئین‌های تنظیمی که اجزای مختلف سیستم کمپلمان را غیر فعال می‌کنند، صورت می‌گیرد (جدول۲-۷).

www.bbooks.ir

TABLE 7-2 Proteins that regulate the complement system

Protein	Type of protein	Pathway affected	Immunologic function
C1 inhibitor (C1Inh)	Soluble	Classical	Serine protease inhibitor: causes $C1r_2s_2$ to dissociate from C1q
C4b-binding protein (C4bBP)*	Soluble	Classical and lectin	Blocks formation of C3 convertase by binding C4b; cofactor for cleavage of C4b by factor I
Factor H*	Soluble	Alternative	Blocks formation of C3 convertase by binding C3b; cofactor for cleavage of C3b by factor I
Complement receptor type 1 (CR1 or CD35)* Membrane-cofactor protein (MCP or CD46)*	Membrane bound	Classical, alternative, and lectin	Block formation of C3 convertase by binding C4b or C3b; cofactor for factor I–catalyzed cleavage of C4b or C3b
Decay-accelerating factor (DAF or CD55)*	Membrane bound	Classical, alternative, and lectin	Accelerates dissociation of $C\overline{4b2a}$and $C\overline{3bBb}$(classical and alternative C3 convertases)
Factor I	Soluble	Classical, alternative, and lectin	Serine protease: cleaves C4b or C3b using C4bBP, CR1, factor H, DAE, or MCP as cofactor
S protein	Soluble	Terminal	Binds soluble C5b67 and prevents its insertion into cell membrane
Homologous restriction factor (HRF), also called membrane inhibitor of reactive lysis (MIRL or CD59)*	Membrane bound	Terminal	Bind to C5b678 on autologous cells, blocking binding of C9
Anaphylatoxin inactivator	Soluble	Effector	Inactivates anaphylatoxin activity of C3a, C4a, and C5a by carboxypeptidase N-catalyzed removal of C-terminal Arg

*An RCA (regulator of complement activation) protein. In humans, all RCA proteins are encoded on chromosome 1 and contain short consensus repeats.



شکل ۱۱-۷: غیر فعال شدن C3b و C4b توسط پروتئین های تنظیمی سیستم کمپلمان.(a) در مسیر کلاسیک، C4bBp، CR1 یا MCP به C4b متصل می شوند. کوفاکتورهایی برای تجزیه و شکست C4b با واسطه فاکتور I عمل می کنند. (b) در مسیر فرعی، فاکتور H، CR1 یا MCP به C3b متصل شده و به عنوان کوفاکتورهایی برای تجزیه C3b توسط فاکتور I عمل می کنند.

www.bbooks.ir

برای مثال گلیکوپروتئین مهار کننده C1q (C1Inh) می‌تواند با C1r2s2 کمپلکس تشکیل داده و موجب جدایی آنها از C1q شده و از فعالیت بیشتر C2 یا C4 ممانعت کند (شکل a ۱۰-۷).

واکنش‌هایی که بوسیله آنزیم‌های مبدل C3 در مسیرهای کلاسیک، لکتین و آلترناتیو کاتالیز می‌شوند، مرحله عمده تقویت فعالیت کمپلمان می‌باشد که در نتیجه آن صدها مولکول C3b تولید می‌شود. C3b تولید شده توانایی اتصال به سلول‌های مجاور و در نتیجه تخریب سلول‌های سالم میزبان را دارا می‌باشند. این تخریب بواسطهٔ هیدرولیز خود به خودی C3b به حداقل می‌رسد زیرا تا زمانی که C3b به فاصله حدود ۴۰nm از آنزیم‌های مبدل خود انتشار یابد، متحمل هیدرولیز خود به خودی قرار گرفته و توانایی آن برای اتصال به جایگاه هدف کاهش می‌یابد. توانایی تخریب سلول‌های سالم میزبان توسط C3b، توسط خانواده‌ای از پروتئین‌های خویشاوند، بیشتر محدود می‌شود. این پروتئین‌های تنظیمی همگی حاوی توالی‌های تکراری اسید آمینه‌ای که حدوداً از ۶۰ زیر واحد تکرار شونده تشکیل شده‌اند، می‌باشند. تمام این پروتئین‌ها توسط تنها یک مکان در کروموزوم ۱ انسانی کد می‌شوند که به عنوان ژن‌های *تنظیم کننده فعالیت کمپلمان*[1] (RCA) شناخته می‌شوند.

در مسیر کلاسیک ولکتین، سه پروتئین RCA متفاوت ازنظر ساختار، به صورت مشابهی مانع از تشکیل مبدلC3 می‌شوند (شکل a ۱۰-۷). این پروتئین‌ها شامل پروتئین محلول متصل شونده به C4(C4BP) و دو پروتئین غشایی شامل : **پذیرنده نوع یک کمپلمان**[2] (CR1)و **پروتئین کوفاکتور غشایی**[3] (MCP) می‌باشند که هر کدام با اتصال به C4b مانع از اتصال C2a به آن می‌شوند. با اتصال هر کدام از این پروتئین‌ها به C4b، پروتئین تنظیمی دیگری به نام **فاکتور I**، C4b را به دو قطعه C4d متصل، C4c محلول می‌شکند (شکل a ۱۰-۷) . مراحل تنظیمی مشابهی برای ممانعت از تشکیل مبدل C3 در مسیر آلترناتیو

1- regulators of complement activation
2- complement receptor type 1
3- membrane cofactor protein

www.bbooks.ir

$\overline{(C3bBb)}$ نیز وجود دارد. دراین مورد، CR1 ، MCP یا یک جزء تنظیمی به نام **فاکتور H** به C3b اتصال یافته و مانع اتصال فاکتور B به آن می‌گردند. (شکل a4 ۱۰-۷). زمانی که MCP،CR1 یا فاکتور H به C3b اتصال یافتند. فاکتورI، C3bرا به یک قطعه iC3b متصل و یک قطعه C3fمحلول می‌شکند. شکست بیشتر iC3b توسط فاکتور I سبب رها شدن C3c و باقی ماندن C3dg متصل به غشا می‌گردد (شکل a5 ۱۰-۷).

همچنین برخی از پروتئین‌های RCA روی تجمع تبدیل کننده C3 عمل کرده و سبب تجزیه آن می‌شوند؛ این پروتئین‌ها شامل C4BP، CR1 و فاکتور H هستند که در بالا به آنها اشاره شد. علاوه بر این ، **فاکتور تسریع کنندهٔ زوال**[1] (DAF یا CD55) که به صورت کووالان بواسطه یک لنگر گلیکوفسفولیپیدی به غشا متصل است، مبدل C3 را تجزیه می‌کنند. نتایج حاصل از نقص DAF در بخش تمرکز بالینی توضیح داده شده است. هر کدام از این پروتئین‌های RCA با جدا کردن اجزای فعال آنزیمی (C2a یا Bb) از مبدل C3، تجزیه مبدل C3 را تسهیل می‌کنند (شکل b۱۰-۷).

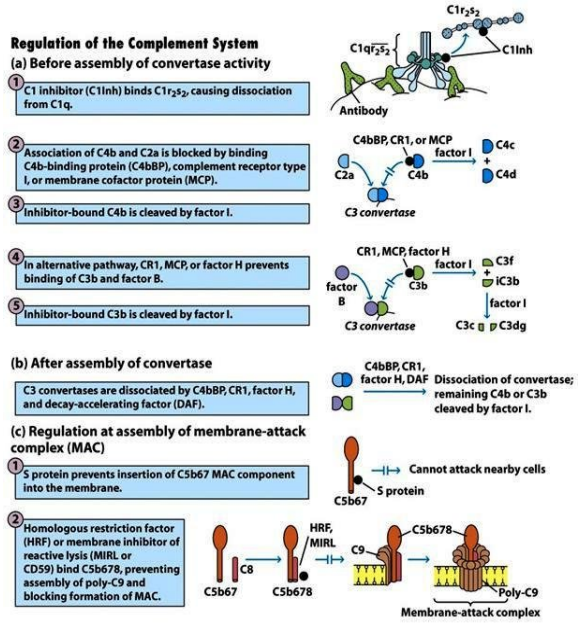
پروتئین‌های تنظیمی همچنین در سطح کمپلکس حمله به غشا نیز عمل می‌کنند. رهایی کمپلکس C5b67، تهدیدی جهت لیز ناظر بی‌گناه سلول‌های سالم می‌باشد. برخی از پروتئین‌های سرمی با اتصال به C5b67 رها شده، از نفوذ آنها به داخل غشای سلول‌های مجاور ممانعت به عمل آورده و از این تهدید جلوگیری می‌کنند. یک پروتئین سرمی که پروتئین S نامیده می‌شود با اتصال به C5b67، آرایش فضایی آن را تغییر داده و مانع از نفوذ آن به غشای سلول‌های مجاور می‌شود (شکل c۱۰-۷).

لیز سلولی با واسطه کمپلمان در صورتی که کمپلمان از گونه‌ای متفاوت با سلولی که لیز می‌شود با شد، بسیار کارآمدتر است. این رخداد، وابسته به پروتئین غشای مهار کننده تشکیل MAC می‌باشد. این پروتئین که در انواع مختلفی از سلول‌ها وجود دارد، **فاکتور**

1- decay accelerating factor

www.bbooks.ir

محدود کنندهٔ همولوگ[1] (HRF)یا **ممانعت کننده غشـایی فعالیـت لایتیـک**[2] (CD59 یـا MIRL) نامیده می‌شود. CD59 سلول‌ها را از لیز غیر اختصاصی با واسطه کمپلمـان، توسـط اتصال به C8 محافظت کرده و از تشکیل پلی C9 و نفوذ آن به غشای پلاسـمایی جلـوگیری می‌کند (شکل ۱۰c-۷).



شکل مروری ۱۰-۷: تنظیم سیستم کمپلمان با پروتئین های تنظیمی که در مراحل مختلفی تأثیر دارند.

با این وجود، این امر تا زمانی که اجزای کمپلمان از گونه‌ای مشابه بـا سـلول‌هـای هـدف باشند، صورت می‌گیرد و نامگذاری قدیمی CD59 به نام فاکتور محدود کننده همولوگ بـه همین دلیل می‌باشد.

1- homologous restriction factor
2- membrane inhibitor of reactive lysis

www.bbooks.ir

- نتایج زیستی فعال شدن کمپلمان

کمپلمان با تقویت پاسخ هومورال و تبدیل آن به یک مکانیسم دفاعی مؤثر برای تخریب میکروارگانیسم‌های مهاجم، به عنوان یک واسطه مهم در پاسخ هومورال عمل می‌کند. MAC لیز سلولی رامیانجی‌گر می‌کند، در حالی که اجزای دیگر کمپلمان یامحصولات حاصل از شکست کمپلمان در پاسخ التهابی، اپسونیزاسیون آنتی‌ژن، خنثی سازی ویروس و پاکسازی مجموعه های ایمنی شرکت می‌کنند (جدول ۳-۷).

TABLE 7-3 Summary of biological effects mediated by complement products

Effect	Complement product mediating*
Cell lysis	C5b–9, the membrane-attack complex (MAC)
Inflammatory response	
Degranulation of mast cells and basophils†	C3a, C4a, and C5a (anaphylatoxins)
Degranulation of eosinophils	C3a, **C5a**
Extravasation and chemotaxis of leukocytes at inflammatory site	C3a, **C5a**, C5b67
Aggregation of platelets	C3a, C5a
Inhibition of monocyte/macrophage migration and induction of their spreading	Bb
Release of neutrophils from bone marrow	C3c
Release of hydrolytic enzymes from neutrophils	C5a
Increased expression of complement receptors type 1 and 3 (CR1 and CR3) on neutrophils	C5a
Opsonization of particulate antigens, increasing their phagocytosis	**C3b**, C4b, iC3b
Viral neutralization	C3b, C5b–9 (MAC)
Solubilization and clearance of immune complexes	C3b

*Boldfaced component is most important in mediating indicated effect.

†Degranulation leads to release of histamine and other mediators that induce contraction of smooth muscle and increased permeability of vessels.

بسیاری از فعالیت‌های زیستی سیستم کمپلمان وابسته به اتصال قطعات کمپلمان به پذیرنده‌های کمپلمان می‌باشد. علاوه بر این برخی پذیرنده‌های کمپلمان، در تنظیم فعالیت کمپلمان نقش مهمی بازی می‌کنند. پذیرنده‌های کمپلمان و لیگاندهای اصلی آنها در (جدول ۴-۷) فهرست شده‌اند.

www.bbooks.ir

TABLE 7-4 Complement-binding receptors

Receptor	Major ligands	Activity	Cellular distribution
CR1 (CD35)	C3b, C4b	Blocks formation of C3 convertase; binds immune complexes to cells	Erythrocytes, neutrophils, monocytes, macrophages, eosinophils, follicular dendritic cells, B cells, some T cells
CR2 (CD21)	C3d, C3dg,* iC3b	Part of B-cell coreceptor; binds Epstein-Barr virus	B cells, follicular dendritic cells, some T cells
CR3 (CD11b/18) CR4 (CD11c/18)	iC3b	Bind cell adhesion molecules on neutrophils, facilitating their extravasation; bind immune complexes, enhancing their phagocytosis	Monocytes, macrophages, neutrophils, natural killer cells, some T cells
C3a/C4a receptor	C3a, C4a	Induces degranulation of mast cells and basophils	Mast cells, basophils, granulocytes
C5a receptor	C5a	Induces degranulation of mast cells and basophils	Mast cells, basophils, granulocytes, monocytes, macrophages, platelets, endothelial cells

*Cleavage of C3dg by serum proteases generates C3d and C3g.

- کمپلکس حمله به غشا می‌تواند طیف وسیعی از سلول‌ها را لیز کند

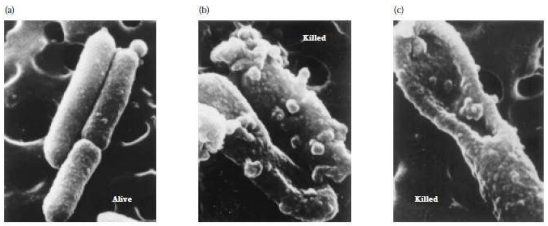
کمپلکس حمله به غشا ناشی از فعال شدن کمپلمان، می‌تواند باکتری‌های گرم منفی ، انگل‌ها، ویروس‌ها، گلبول‌های قرمز و سلول‌های هسته‌دار را لیز کند. بدلیل این که مسیرهای آلترناتیو و لکتین فعالیت کمپلمان، به طور معمول بدون یک واکنش آنتی‌ژن – آنتی‌بادی اولیه صورت می‌گیرد، این مسیرها به عنوان دفاع‌های مهم ایمنی ذاتی علیه میکروارگانیسم‌های عفونی عمل می‌کنند. نیاز به یک واکنش آنتی‌ژن– آنتی‌بادی اولیه در مسیر کلاسیک ، این دفاع‌های غیر اختصاصی ذاتی را با یک مکانیسم دفاعی اختصاصی‌تر تکمیل می‌کند. در برخی موارد، نیاز به آنتی‌بادی در وقایع فعال‌سازی، ممکن است توسط آنتی‌بادی‌های طبیعی پیش ساخته که بر ضد ترکیبات مشترک میکروب‌های شایع ایجاد شده‌اند، برآورده شود.

اهمیت ایمنی سلولی در دفاع میزبان علیه عفونت‌های ویروسی، توسط بررسی‌های فراوانی مورد تأکید قرار گرفته و درفصل‌های بعدی بحث خواهند شد. بنابراین، آنتی‌بادی و کمپلمان در دفاع میزبان علیه ویروس‌ها نقش بازی می‌کنند واغلب، در مهار انتشار ویروس‌ها در طی عفونت حاد و جلوگیری از عفونت مجدد حیاتی‌اند. بیشتر ویروس‌های پوشش‌دار به لیز با

www.bbooks.ir

واسطه کمپلمان حساسند. پوشش ویروس تا حد زیادی از غشای پلاسمایی سلول‌های آلـوده میزبان مشتق شده است و بنابراین به تشـکیل منفـذ توسـط MAC حسـاس مـی‌باشـد. از ویروس‌های پاتوژن حساس به لیز با واسطه کمپلمان، هرپس ویروس‌ها، ارتومیکسوویروس‌ها (عوامل ایجاد کنندهٔ سرخک و اوریون)، پارامیکسوویروس‌ها (مثل آنفولانزا) و رتروویروس‌ها را می‌توان نام برد.

به طور معمول سیستم کمپلمان در لیز باکتری های گرم منفی کاملاً مـؤثر اسـت (شـکل ۱۲-۷).



شکل ۱۲-۷: میکروگراف های الکترونی نگاره از E.coli که سلول های سالم و دست نخورده(a) و سلول های کشته شده با لیز کمپلمان (b) و (c) را نشان می دهد.

با این وجود برخی از باکتری‌های گرم منفی و اکثر باکتری‌های گرم مثبت ، مکانیسم‌هایی برای فرار از تخریب با واسطه کمپلمان دارند (جدول ۵-۷) .

www.bbooks.ir

TABLE 7-5 Microbial evasion of complement-mediated damage

Microbial component	Mechanism of evasion	Examples
	GRAM-NEGATIVE BACTERIA	
Long polysaccharide chains in cell wall LPS*	Side chains prevent insertion of MAC into bacterial membrane*	Resistant strains of *E. coli* and *Salmonella*
Outer membrane protein	MAC interacts with membrane protein and fails to insert into bacterial membrane	Resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*
Elastase	Anaphylatoxins C3a and C5a are inactivated by microbial elastase	*Pseudomonas aeruginosa*
	GRAM-POSITIVE BACTERIA	
Peptidoglycan layer of cell wall	Insertion of MAC into bacterial membrane is prevented by thick layer of peptidoglycan	*Streptococcus*
Bacterial capsule	Capsule provides physical barrier between C3b deposited on bacterial membrane and CR1 on phagocytic cells*	*Streptococcus pneumoniae*
	OTHER MICROBES	
Proteins that mimic complement regulatory proteins	Protein present in various bacteria, viruses, fungi, and protozoans inhibit the complement cascade	Vaccinia virus, herpes simplex, Epstein-Barr virus, *Trypanosoma cruzi*, Candida *albicans*

*LPS = lipopolysaccharide; MAC = membrane-attack complex; CR1 = complement receptor type 1.

برای نمونه، اندکی از باکتری‌های گرم منفی می‌توانند به لیز با واسطه کمپلمان مقاومت کنند.

در *E.coli* و *سالمونلا*، مقاومت به کمپلمان درارتباط با فنوتایپ صاف (Smooth) باکتری می‌باشد که با حضور زنجیره‌های جانبی پلی ساکاریدی طویل در ترکیب LPS دیواره سلولی مشخص می‌شود. پیشنهاد شده است که افزایش LPSدر دیواره سویه‌های مقاوم ممکن است از نفوذ MAC به غشای باکتری ممانعت کند به طوری که کمپلکس، پیش از تشکیل منفذ، از سلول باکتری جدا می‌شود.

باکتری‌های گرم مثبت به طور معمول به لیز با واسطه کمپلمان مقاومند، زیرا لایهٔ پپتیدوگلیکان ضخیم موجود در دیواره سلولی آنها، از نفوذ MAC به غشای داخلی جلوگیری می‌کند. هر چند که فعال‌سازی کمپلمان می‌تواند در غشای سلولی باکتری‌های کپسول داری مثل *پنوموکوک* رخ دهد، با این حال، کپسول از واکنش با C3b رسوب کرده بر روی غشا و CR1 روی سلول‌های بیگانه‌خوار جلوگیری می‌کند. برخی از باکتری‌ها الاستازی دارند که C3a و C5a را غیر فعال کرده و از القای پاسخ التهابی توسط این محصولات ممانعت می‌کند. علاوه بر این مکانیسم‌های فرار، باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و تک یاخته‌های

www.bbooks.ir

مختلف دارای پروتئین‌هایی هستند که می‌توانند در سطح خود، آبشار کمپلمان را مختل کنند. بنابراین اثرات پروتئین‌های تنظیمی طبیعی کمپلمان C4bBP ، CR2 و CD55 (DAF) را تقلید می‌کنند.

لیز سلول‌های هسته‌دار، وابسته به تشکیل چندین MACمی‌باشد، در حالی که تنها یک MAC می‌تواند یک گلبول قرمز را لیز کند. شمار بسیاری از سلول‌های هسته‌دار مثل اکثر سلول‌های سرطانی، می‌توانند MAC را اندوستیوز کنند. اگر کمپلکس به موقع برداشته شود، سلول می‌تواند صدمات غشایی را ترمیم نموده و پایداری اسموتیک خود را باز گردانند. متأسفانه یکی از نتایج این اثر، این است که ممکن است به خاطر اندوستیوزMAC، لیز با واسطهٔ کمپلمان توسط آنتی‌بادی‌های اختصاصی برای آنتی‌ژن‌های توموری ناکارآمد باشد (فصل ۲۱).

- محصولات ناشی از شکست کمپلمان، التهاب را میانجی‌گری می‌کنند

اگرچه به طور طبیعی بحث‌های آبشار کمپلمان روی نقش آن در لیز سلولی متمرکز می‌شود، عملکردهای مهم دیگری نیز در روند فعال‌سازی کمپلمان انجام می‌گیرد. با اهمیت‌ترین آنها قطعات کوچکترمختلفی هستند که طی تشکیل MAC تولید می‌شوند (جدول ۳-۷). قطعات کوچکتر ناشی از شکست کمپلمان (C3a ، C5a که آنافیلاتوکسین نامیده می‌شوند) به پذیرنده‌های روی ماست سل‌ها و بازوفیل‌های خونی متصل شده و موجب دگرانولاسیون آنها می‌شوند. همچنین آنافیلاتوکسین‌ها سبب انقباض ماهیچه‌های صاف شده و نفوذ پذیری عروقی را افزایش می‌دهند. بنابراین، فعالشدن کمپلمان منجر به نفوذ مایعی می‌شود که آنتی‌بادی و سلول‌های بیگانه‌خوار را به جایگاه ورود آنتی‌ژن حمل می‌کند. فعالیت این آنافیلاتوکسین‌های بسیار فعال ، توسط یک پروتئاز سرمی به نام **N- کربوکسی پپتیداز**[1] تنظیم می‌شود. این آنزیم سبب شکست یک بنیان آرژنین از انتهای کربوکسی مولکول شده

1- carboxypeptidase N

www.bbooks.ir

و اشکال فاقد آرژنیین[1] را بوجود می‌آورد. شکل بدون آرژتین C3a به طور کامل، غیر فعال بوده در حالی که C5aبخشی از هر دو فعالیت کموتاکتیک و توانایی انقباض ماهیچه صاف را حفظ می‌کند.

C3a و C5a می‌توانند باعث القای اتصال منوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها به سلول‌های اندوتلیال عروقی ، خروج از رگ از طریق اندوتلیال مفروش کننده مویرگ و مهاجرت به سمت جایگاه فعال شدن کمپلمان در بافت‌ها گردند. C5a قوی‌ترین واسطه در چنین روندهایی است و حتی در مقادیر پیکومولار نیز کارآمد می‌باشد. نقش کمپلمان در کموتاکسی لکوسیت‌ها به طور کامل‌تر در فصل ۱۴ بحث خواهد شد.

- تمرکز بالینی

- هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه؛ یک نقص در تنظیم لیز با واسطه کمپلمان می‌باشد

علائم شایع همراه با نقص اجزای کمپلمان شامل افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌های باکتریایی و *لوپوس اریتماتورز سیستمیک* می‌باشند. نقص در پروتئین‌های تنظیم کننده فعالیت کمپلمان می‌توانند اختلالات جدی را ایجاد کنند. یک مثال آن، **هموگلوبینوری حمله‌ای شبانه**[2] یا PNH می‌باشد که منجربه آنمی همولیتیک مزمن، پان سیتوپنی و ترومبوز عروقی می‌گردد. نام PNH برگرفته از حضور هموگلوبین در ادرار است که اغلب اوقات در اولین ادرار بعد از خواب شبانه دیده می‌شود. علت PNH معمولاً نقص در سنتزیک پروتئین سطحی سلولی است که روی عرضهٔ دو جزء تنظیمی کمپلمان [(CD59) MIRL , (CD55)DAF] تأثیر می‌گذارد.

1- des -Arg
2- paroxymal nocturnal hemoglobinuria

www.bbooks.ir

CD55 و CD59 پروتئین‌های سطحی هستند که مانع از لیز با واسطهٔ کمپلمان می‌شوند اما، در مراحل مختلف این روند عمل می‌کنند. CD55 با تجزیه و غیر فعال کردن جدول C3 مسیر کلاسیک، لکتین و آلترناتیو مانع از لیز سلولی می‌شود (شکل ۱۰b-۷). CD59 دیرتر عمل می‌کند و با اتصال به کمپلکس C5b678 و ممانعت از اتصال C9 ، از تشکیل منافذی که سبب تخریب سلول می‌گردند، جلوگیری می‌کند. هر دو پروتئین روی گلبول‌های قرمز و شماری از انواع دیگر سلول‌های خونساز بیان می‌شوند. نقص در این پروتئین‌ها منجر به افزایش حساسیت سلول‌های میزبان به اثر لایتیک ناشی از فعالیت کمپلمان میزبان می‌شود. PNH یک بیماری مزمن بوده ومیانگین طول عمر در آن بین ۱۰-۱۵ سال است. شایع‌ترین علت مرگ در PNH، ترومبوز عروقی است که روی وریدهای کبدی و مغز استخوان تأثیر می‌گذارند.

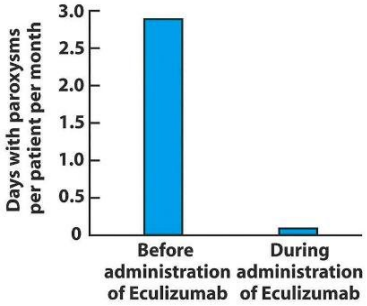
یک جبنه غیرعادی این بیماری خطرناک و نادر این حقیقت است که دو پروتئین مختلف در پاتوژنیسیته این بیماری درگیر هستند. رخداد این نقص ژنتیکی در هر دو پروتئین به طور همزمان، کمتر از ۱ در ۱۰۰۰۰۰ شیوع PNH است. در حقیقت، در PNH هیچ کدام از این پروتئین‌ها خودشان نقص ندارند؛ بلکه نقص مربوط به تغییرات پس از ترجمه یک پروتئین لنگری است که این دو پروتئین را به سطح سلول متصل می‌کند. اگر چه اغلب پروتئین‌هایی که روی سطح سلول عرضه می‌شوند توالی آبگریزی دارند و از خلال دو لایه لیپیدی غشای سلولی عبور می‌کنند ولی برخی بوسیله لنگرهای گلیکولیپیدی (GPI، گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول) که به واحدهای اسید آمینه پروتئین اتصال می‌یابند، به سطح سلول می‌چسبند. اگر توانایی تشکیل لنگر GPI از بین برود، پروتئین‌هایی مثل CD55 ، CD59 که از این طریق اتصال می‌یابند، در سطح سلول حضور نمی‌یابند.

نقص شناخته شده در PNH در اوایل مسیر آنزیماتیکی که منجر به تشکیل لنگر GPIمی‌شود و درژن Pig-a (ژن‌های مکمل رده A فسفاتیدیل اینوزیتول گلیکان) قرار دارد. آلوده سازی سلول های PNH بیماران با ژن سالم Pig-a منجر به بازگشت مقاومت

www.bbooks.ir

سلول میزبان به لیز با واسطه کمپلمان می‌شود. به دلیل این که نقص، بر روی سلول‌های بسیاری تأثیر می‌گذارد درمان بواسطه ژن‌درمانی عملی نمی‌باشد.

موفقیت اخیر در درمان PNH با استفاده از آنتی‌بادی منوکلونال انسانی شده گزارش شده که جزءC5 کمپلمان را هدف قرار می‌دهد و بنابراین مراحل پایانی آبشار کمپلمان و تشکیل MAC را مهار می‌کند. این آنتی‌بادی‌ها با نام تجاری *Eculizumab* ، به بیماران تزریق شد و لیز سلول‌های قرمز خون آنها مورد پایش قرار گرفت. بهبودی چشمگیری در بیماران در طول یک دوره ۱۲ هفته‌ای درمان با *Eculizumab* دیده شد (شکل تمرکز بالینی).



خصوصیات PNH این حقیقت را مورد تأکید قرار می‌دهد که سیستم کمپلمان، مدافع قدرتمندی برای میزبان می‌باشد اما همچنین خطرناک نیز می‌باشد. سیستم‌های تنظیمی پیچیده‌ایی برای محافظت سلول‌های میزبان از فعالیت کمپلمان ضروری می‌باشد.

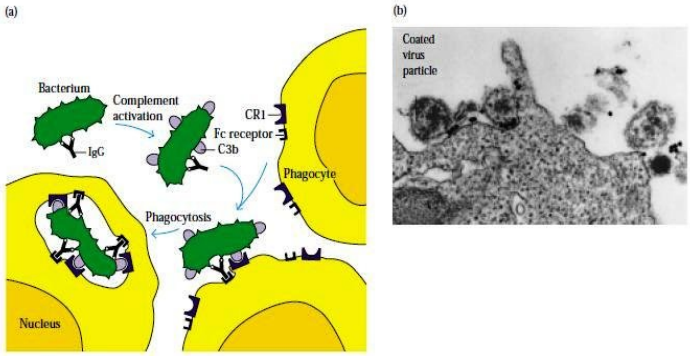
- اتصال C3bو C4b سبب تسهیل اپسونیزاسیون می‌گردد

C3b ، عمده‌ترین اپسونین سیستم کمپلمان می‌باشد، اگر چه C4b و iC3b نیز فعالیت اپسونینی دارند. تقویتی که در نتیجه فعالیت C3 صورت می‌گیرد باعث می شود C3b سطح مجموعه‌های ایمنی و آنتی‌ژن‌های ذره‌ای را بپوشاند. فاگوسیت‌ها همانند برخی از سلول‌های دیگر، پذیرنده‌های کمپلمان نوع 1 ، 4،3 را که به C3b ، C4b یا iC3b اتصال

www.bbooks.ir

می‌یابند، بیان می‌کنند (جدول ۴-۷). آنتی‌ژن‌های پوشیده شده با C3b به سلول‌های عرضه کننده CR1 اتصال می‌یابند. در صورتی که این سلول یک بیگانه خوار باشد، فاگوسیتوز افزایش خواهد یافت (شکل۱۳-۷).

افزایش فاگوستیوز سلول‌ها بوسیله عوامل مختلف (مشخص شده که C5a ، تعداد CR1ها از ۵۰۰۰ عدد بر روی فاگوسیت‌های در حال استراحت تا ۵۰۰۰۰ عدد بر روی سلول‌های فعال شده را افزایش می‌دهد) فاگوسیتوز آنتی‌ژن‌های پوشیده شده با C3b را به شدت تسهیل می‌کند.



شکل ۱۳-۷: (a) تصویر شماتیکی از نقش C3b و آنتی بادی در اپسونیزاسیون. (b) میکروگراف الکترونی از EBV پوشیده از آنتی بادی و C3b متصل به پذیرنده Fc و C3b بر روی یک لنفوسیت B.

بررسی‌های اخیر نشان داده که جزءC3b کمپلمان وقتی به آنتی‌ژن پروتئینی اتصال می‌یابد به عنوان یک ادجوانت عمل می‌کند. C3b ، مستقیماً آنتی‌ژن را به سمت سلول فاگوسیت هدایت می‌کند وسبب افزایش پردازش آنتی‌ژن شده و تولید آنتی‌بادی اختصاصی را تسریع می‌کند.

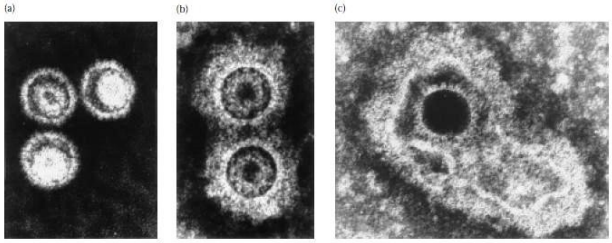
www.bbooks.ir

- سیستم کمپلمان عفونت‌های ویروسی را نیز خنثی می‌کند

در مورد اغلب ویروس‌ها، اتصال آنتی‌بادی سرمی به واحدهای تکراری پروتئین‌های ویروس، سبب تشکیل مجموعه‌های ایمنی ذره‌ای شده که برای فعال‌سازی کمپلمان از طریق مسیر کلاسیک ، مناسب می‌باشند. برخی ویروس‌ها مانند رتروویروس، EBV، ویروس بیماری نیوکاسل و ویروس سرخچه می‌توانند مسیر آلترناتیو، لکتین یا حتی مسیر کلاسیک را در غیاب آنتی‌بادی فعال کنند.

سیستم کمپلمان با مکانیسم‌های متفاوتی موجب خنثی‌سازی ویروس می‌شود. درجات متفاوتی از خنثی‌سازی بوسیله تشکیل تجمعات بزرگ ویروسی بدست می‌آید. بدلیل این که این تجمعات سبب کاهش تعداد ذرات ویروسی می‌گردد. اگرچه آنتی‌بادی نقش اصلی را در تجمع ویروسی بازی می‌کند، بررسی‌ها در محیط آزمایشگاه نشان می‌دهند که جزء C3b تشکیل تجمع ذرات ویروسی را تنها در حضور حداقل دو مولکول آنتی‌بادی در هر ویریون تسهیل می‌کند. برای مثال، ویروس پولیومای پوشیده شده با آنتی‌بادی، زمانی که سرم حاوی C3 فعال شده به آن اضافه شود، خنثی می‌گردد.

اتصال آنتی‌بادی یا کمپلمان به سطح ذرات ویروسی ، سبب ایجاد یک لایه ضخیم پروتئینی اطراف آن می‌شود که با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده است (شکل ۱۴-۷).



شکل ۱۴-۷: میکروگراف الکترونی از EBV که به طور منفی رنگ آمیزی شده است. (a) یک کنترل بدون آنتی بادی، (b) ذرات پوشیده با آنتی بادی، (c) ذرات پوشیده با کمپلمان و آنتی بادی.

www.bbooks.ir

این پوشش، با ممانعت از اتصال ویروس به سلول‌های حساس میزبان، عفونت زایی ویروس را خنثی می‌کند. رسوب آنتی‌بادی و کمپلمان روی ذرات ویروس، همچنین اتصال ذرات ویروسی به سلول‌های دارای پذیرنده Fc یا پذیرندهٔ نوع یک کمپلمان (CR1) را تسهیل می کند. در صورتی که سلول‌ها فاگوسیت باشند، چنین اتصالی به فاگوستیوز و تخریب داخل سلولی ذره بلغ شده ویروسی می‌انجامد و در نهایت کمپلمان برای لیز اغلب ویروس‌های پوشش‌دار بسیار کارآمد می‌باشد و موجب قطعه قطعه شدن پوشش ویروسی و تجزیه نوکلئوکسپید می‌شود.

ویروس‌ها، مکانیسم‌های مختلفی را برای فرار از فعالیت کمپلمان کسب کرده‌اند این راهکارها در سه گروه مختلف طبقه‌بندی می‌شوند:

۱- تداخل در اتصال کمپلمان به مجموعه آنتی‌ژن-آنتی‌بادی. این راهکار فرار توسط هر پس ویروس که پروتئینی با خاصیت پذیرندگی Fc را تولید می‌کند، استفاده می‌شود. اتصال این پروتئین‌ها به ایمونوگلوبین‌های غیراختصاصی، اتصال آنتی‌بادی‌های اختصاصی ضد ویروسی را مهار می‌کند.

۲- تقلید ویروس از تنظیم کننده‌های کمپلمان پستاندران. ویروس واکسینیا یک پروتئین متصل شونده به C4b و C3b تولید می‌کند که در فعالیت آنها مداخله کرده و علاوه برآن به عنوان کوفاکتوری برای فاکتور مهاری I عمل می‌کند.

۳- شرکت تنظیم کننده‌های کمپلمان در ذره ویروسی. ویروسی لوسمی سلول T انسان، (HTLV-1) مقادیر بالایی از اسیدسیالیک را روی پوشش خود جمع‌آوری نموده و ویروس خود را با خصوصیات سلول‌های پستانداران می‌پوشاند.

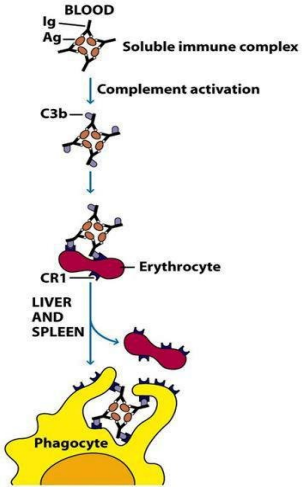
www.bbooks.ir

- سیستم کمپلمان، مجموعه‌های ایمنی در گردش را پاکسازی می‌کند

سیستم کمپلمان در پاکسازی مجموعه‌های ایمنی در افراد مبتلا به SLE دخالت دارد. این اشخاص مقادیر بالایی از مجموعه‌های ایمنی تولید کرده و از صدمات بافتی در اثر لیز با واسطه کمپلمان و ازدیاد حساسیت تیپ II یا تیپ III رنج می‌برند (فصل ۱۵). با وجودی که کمپلمان نقش مهمی در پیشبرد صدمات بافتی SLEدارد، اما یافته‌های متناقضی وجود دارند که نقص در C1، C2، C4، CR1 فرد را مستعد SLE می‌کند. در واقع ۹۰ درصد اشخاصی که به طور کامل فاقد C4 می‌باشند به SLEدچار می‌شوند. تصور می‌شود که نقایص کمپلمان با محلول‌سازی کارآمد و پاکسازی مجموعه‌های ایمنی تداخل داشته باشند؛ در نتیجه این مجموعه‌ها پایدار شده و منجر به صدمات بافتی می‌گردند.

تصور می‌شود که پوشیده شدن مجموعه‌های ایمنی با C3b، اتصال آنها را به CR1 سطح ارتیروسیت‌ها تسهیل کند. هر چند که اریتروسیت‌ها نسبت به گرانولوسیت‌ها سطوح کمتری از CR1 را روی سطح خود بارز می‌کنند، ولی با این حال به ازای هر گلبول سفید خون ، ۱۰۰۰ گلبول قرمز وجود داشته و اریتروسیت‌ها ۹۰ درصد CR1های موجود را روی سطح خود عرضه می‌کنند . به همین دلیل، گلبول‌های قرمز نقش مهمی در اتصال به مجموعه‌های ایمنی پوشیده شده با C3b و حمل آنها به کبد و طحال بر عهده دارند. در این اعضا، مجموعه‌های ایمنی از گلبول‌های قرمز خون جدا شده و فاگوستیوز می‌شوند و بدین ترتیب از رسوبشان دربافت‌ها جلوگیری می‌شود (شکل ۱۵-۷).

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۷: پاکسازی مجموعه های ایمنی در گردش توسط واکنش با پذیرنده های محصولات کمپلمان بر روی اریتروسیت ها و حذف این مجموعه ها از طریق پذیرنده های روی سطح ماکروفاژها در کبد و طحال. از آنجایی که اریتروسیت ها نسبت به ماکروفاژها پذیرنده های کمتری دارند، ماکروفاژها می توانند این مجموعه‌ها را از سطح اریتروسیت ها با عبور دادن آنها از کبد و طحال پاک سازی کنند. نقص در این فرآیند می تواند در نتیجه رسوب مجموعه های ایمنی منجر به آسیب کلیوی شود.

در بیماران SLE، نقض هر کدام از C1، C2، C4 موجب کاهش مقدار C3b در سطح مجموعه‌های ایمنی گشته و پاکسازی آنها را مهار می‌کند. همچنین مقادیر پایین CR1 عرضه شده روی سطح اریتروسیت‌های این بیماران، ممکن است مانع اتصال مناسب و پاکسازی مجموعه‌های ایمنی شود.

- نقایص کمپلمان

نقایص ژنتیکی برای هر کدام از اجزای کمپلمان توصیف شده‌اند. نقایص هموزیگوت در هر کدام از اجزای ابتدایی مسیر کلاسیک مثل C1q، C1r، Cls، C4 و C2 منجر به افزایش قابل توجه بیماری‌های مجموعه ایمنی مانند SLE، گلومرولونفریت و واسکولیت با علائم مشابهی می‌گردد. اثرات این نقایص، اهمیت واکنش‌های ابتدایی کمپلمان در تولید C3b و

www.bbooks.ir

نقش مهم C3b در محلول‌سازی و پاکسازی مجموعه‌های ایمنی را آشکار می‌کند. علاوه بر بیماری‌های مجموعه ایمنی ، این افراد از عفونت‌های راجعه با باکتری‌های چرک‌زا مانند *استرپتوکوک* و *استافیلوکوک* نیز رنج می‌بدند. این ارگانیسم‌ها گرم مثبت بوده وبنابراین در برابر اثرات لایتیک MAC مقاومند. بنابراین، اجزای اولیه به طور معمول با ایجاد یک پاسخ التهابی موضعی و اپسونیزاسیون باکتری، از عفونت‌های راجعه جلوگیری می‌کنند. به نظر می‌رسد نقایص حاصل از فاکتور D و پروپردین باعفونت‌های نایسریا و نه با بیماری‌های مجموعه ایمنی مرتبط باشند. نشان داده شده که نقص MBL نسبتاً شایع بوده و منجر به عفونت‌های چرک‌زای خطرناکی در نوزادان و کودکان گشته و کودکان بانقص MBLاز عفونت‌های مجاری تنفسی رنج می‌برند.

اشخاص مبتلا به کمبود C3، شدیدترین تظاهرات بالینی را داشته که نشان دهندهٔ نقش محوری C3در فعال‌سازی C5 و تشکیل MAC می‌باشد. اولین مورد کمبود C3، کودکی بود که از عفونت‌های مکرر و شدید باکتریایی رنج می‌برد و در ابتدا به عنوان آگاماگلبولینمی تشخیص داده شد. پس از این که آزمون‌ها مقادیر طبیعی ایمونوگلوبین را نشان دادند، نقص C3کشف شد. این مورد نشان دهنده عملکرد حیاتی سیستم کمپلمان در تبدیل پاسخ آنتی‌بادی هومورال به یک مکانیسم دفاعی کارآمد می‌باشد.

سطح C4 به طور قابل ملاحظه‌ای در جمعیت‌های مختلف متغیر است و افراد با سطوح کمتر C4 ممکن است با شیوع بیشتری دچار بیماری خود ایمن گردند. ژن‌های کد کنندهٔ C4 در جایگاه MHC قرار دارند (فصل ۸) و تعداد ژن‌های C4 ممکن است از ۲ تا ۷ نسخه در یک فرد متفاوت باشند. مطالعات اخیر وجود ارتباط ژنتیکی میان مقادیر پایین C4 و افزایش خطر ابتلا به SLE را نشان داده‌اند.

اشخاصی با نقایص هموزیگوت در اجزای درگیر در MAC، دچار عفونت‌های راجعه *گنوکوکی* و *مننگوکوکی* می‌گردند. در اشخاص طبیعی این باکتری‌های گرم منفی به لیز با واسطه کمپلمان حساس بوده و یا با فعالیت اپسونیزاسیون C3bپاکسازی می‌شوند. اشخاص

www.bbooks.ir

با نقص MAC به ندرت بیماری مجموعه ایمنی داشته و این امر حاکی از آن است که آنها مقادیر کافی C3bجهت پاکسازی مجموعه‌های ایمنی تولید می‌کنند. به طور شگفت‌انگیزی کمبود C9 منجر به علائم بالینی نمی‌شود ونشان دهنده آن است که همیشه کل MAC برای لیز با واسطه کمپلمان ضروری نمی‌باشد.

نقایص مادرزادی پروتئین‌های تنظیمی کمپلمان نیز گزارش شده‌اند. مهار کننده C1(C1Inh) فعال سازی مسیر کلاسیک را با جلوگیری از فعال شدن بیشتر C4,C2 توسط C1 تنظیم می‌کند. نقص C1Inh یک نقص اتوزومال غالب و با شیوع ۱ در ۱۰۰۰ می‌باشد. این نقص باعث **آنژیوادم ارثی**[1] شده و اغلب بعد از تروما بوجود می‌آید. ادم می‌تواند در بافت‌های زیر جلدی یا داخل روده یا مجاری تنفس فوقانی ایجاد شود.

منبع اصلی داده‌ها درباره نقش ویژه اجزای کمپلمان در ایمنی زایی، از بررسی انسان‌ها و حیوانات آزمایشگاهی با نقایص هموزیگوت در اجزای کمپلمان بدست می‌آید. تحقیقات آزمایشگاهی در چنین حیواناتی اختصاص نقش‌های دقیق بیولوژیک برای هر کدام از پروتئین های پیچیده سیستم کمپلمان را امکان‌پذیر ساخته است.

- خلاصه

- سیستم کمپلمان از گروهی از پروتئین‌های سرمی که بسیاری از آنها به شکل غیر فعال وجود دارند، تشکیل شده است.
- فعال سازی کمپلمان توسط مسیرهای کلاسیک ، آلترناتیو و یا لکتین صورت می‌گیرد و هر کدام از آنها به طور متفاوتی آغاز می‌گردند.
- هر سه مسیر در وقایعی متوالی که منجر به تولید مجموعه مولکولی که سبب لیز سلولی می‌شود، با یکدیگر مشترک می‌باشند.

1- hereditary angioedema

www.bbooks.ir

- مسیر کلاسیک با اتصال آنتی‌بادی به سلول هدف آغاز می‌گردد؛ واکنش‌های IgM و کلاس‌های خاص از IgG این مسیر را فعال می‌کنند.
- فعال‌سازی مسیرهای آلترناتیو و لکتین مستقل از آنتی‌بادی می‌باشند. این مسیرها با واکنش پروتئین‌های کمپلمان با مولکول‌های سطح مکیروارگانیسم‌ها آغاز می‌گردند.
- علاوه بر نقش کلیدی کمپلمان در لیز سلولی، سیستم کمپلمان اپسونیزاسیون باکتری‌ها، فعال‌سازی التهاب و پاکسازی مجموعه‌های ایمنی را نیز میانجی‌گری می‌کند.
- میانکنش پروتئین‌های کمپلمان و قطعات پروتئینی با پذیرنده‌های روی سلول‌های ایمنی، هر دو پاسخ ایمنی ذاتی و اکتسابی را کنترل می‌کند.
- بدلیل توانایی آسیب‌رسانی سیستم کمپلمان به ارگانیسم میزبان، سیستم کمپلمان به مکانیسم‌های تنظیم کننده فعال و غیر فعال نیاز دارد.
- محدوده پیامد بالینی ناشی از نقایص مادر زادی کمپلمان، از افزایش استعداد ابتلا به عفونت تا صدمه بافتی ناشی از مجموعه‌های ایمنی متغیر می‌باشد.

- سئوالات درسی

۱- کدام یک از جملات زیر درست و کدامیک نادرست می‌باشد؟ اگر فکر می‌کنید جمله‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

الف) تنها با اتصال یک مولکول IgM، جزء C1q مسیر کلاسیک کمپلمان فعال می‌شود.

ب) C3a و C3b از C3 مشتق می‌شوند.

پ) اجزای C2 و C4 به شکل پروآنزیم غیر فعال در سرم حضور دارند.

ت) سلول‌های هسته‌دار نسبت به گلبول‌های قرمز، مقاومت بیشتری به لیز با واسطه کمپلمان دارند.

www.bbooks.ir

ث) ویروس‌های پوشش‌دار نمی توانند توسط کمپلمان لیز شوند زیرا پوشش خارجی آنها به تشکیل منفذ با واسطه MAC مقاوم می‌باشد.

ج) افراد با نقص C4 به سختی مجموعه‌های ایمنی را پاکسازی می‌کنند.

۲- توضیح دهد که چرا IgM سرم به تنهایی نمی‌تواند کمپلمان را فعال کند.

۳- نقص ژنتیکی تمام اجزای کمپلمان به جز فاکتور B در بیماران توصیف شده است. نتایج حاصل از فقدان C3 را در موارد زیر توضیح دهید.

الف) فعال شدن مسیرهای کلاسیک و آلترناتیو

ب) پاکسازی مجموعه‌های ایمنی

پ) فاگوسیتوز باکتری‌های عفونی

ت) عرضه پپتیدهای آنتی‌ژنی باکتری‌های عفونی

۴- چهار عملکرد اصلی سیستم کمپلمان را به صورت خلاصه بیان کنید.

۵- فعال شدن کمپلمان می‌تواند از هر سه مسیر کلاسیک،آلترناتیو و لکتین انجام گیرد.

الف) چطور این سه مسیر در مواردی که می‌توانند فعال شدن را آغاز کنند، متفاوت می‌باشند؟

ب)کدام بخش از کل فرایند فعال شدن، دراین سه مسیر متفاوت می‌باشد؟

پ) چطور نتایج زیستی فعال شدن این سه مسیر متفاوت می‌باشد؟

۶- سلول‌های بدون هسته مانند گلبول‌های قرمز، نسبت به سلول‌های هسته‌دار به لیز با واسطه کمپلمان حساس‌تر می‌باشند.

الف) توضیح دهید که چرا گلبول‌های قرمز یک فرد به طور طبیعی در اثر لیز با واسطه کمپلمان به عنوان ناظر بی گناه تخریب نمی‌شوند؟

ب) تحت چه شرایطی کمپلمان می‌تواند سبب لیز گلبول‌های قرمز خونی خود فرد گردد؟

www.bbooks.ir

۷- به طور خلاصه مکانیسم عمل پروتئین‌های تنظیمی کمپلمان را که در زیر آمده شرح دهید. مسیرهایی که هر پروتئین تنظیم می‌کند را نشان دهید.

الف) مهار کننده C1 (C1Inh)

ب) عامل محدود کننده همولوگ (HRF)

پ) پروتئین متصل شونده به C4b (C4bBP)

ت) فاکتور تسریع کننده زوال (DAF)

ث) پروتئین کوفاکتور غشایی (MCP)

ج) فاکتور H

۸- برای هریک از اجزای کمپلمان یکی از مناسب‌ترین تعاریف را انتخاب کنید. هر تعریف ممکن است یک بار، بیش از یک بار و یا اصلاً استفاده نشود.

اجزای کمپلمان

الف) C3b	چ) C9, C8, C7, C6, C5b
ب) C4, C3, C2, C1	ح) C3 ⟶ C3a+ C003b
پ) C9	خ) C5b67, C5a, C3a
ت) C3 ، فاکتورB، فاکتور D	د) C5a, C4a, C3a
ث) C19	ذ) C4b2a
ج) $\overline{C4b2a3b}$	ر) C3b+B ⟶ C3bBb + Ba`

تعاریف

- واکنشی که تقویت کننده اصلی در طی فعالیت کمپلمان می‌باشد.
- اولین جزء مسر آلترناتیو می‌باشد.
- مجموعه حمله به غشا را می‌سازد.
- میانجی‌گری اپسونیزاسیون

www.bbooks.ir

- اولین جزء مسیر کلاسیک
- فعایت شبه پرفورین دارد.
- به ناحیه Fc آنتی‌بادی‌ها متصل می‌شود.
- فعالیت کموتاکتیک دارد.
- مبدل C3 می‌باشد.
- دگرانولاسیون ماست سل‌ها را القا می‌کند (آنافیلاتوکسین).
- مبدل C5 می‌باشد.
- واکنش توسط فاکتور D کاتالیز می‌شود.
- واکنش توسط C1qr2s2 کاتالیز می‌شود.

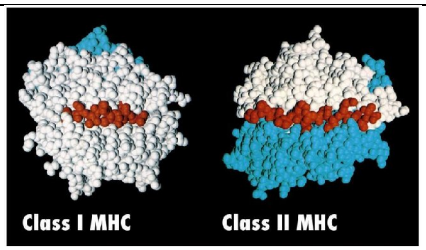
www.bbooks.ir

فصل هشتم

مجموعه اصلی سازگاری بافتی و عرضه آنتی‌ژن

- سازماندهی و وراثت MHC
- ژن‌ها و مولکول‌های MHC
- عرضه سلولی مولکول‌های MHC
- MHC و استعداد ابتلا به بیماری
- MHC و پاسخ‌دهی ایمنی
- محدودیت سلول‌های T به MHCخودی
- نقش سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن
- شواهدی برای مسیرهای مختلف پردازش و عرضه آنتی‌ژن
- آنتی‌ژن‌های اندوژن: مسیر سیتوزولی
- آنتی‌ژن‌های اگزوژن: مسیر اندوسیتی
- عرضه متقاطع آنتی‌ژن‌های اگزوژن
- عرضه آنتی‌ژن‌های غیر پپتیدی

www.bbooks.ir



درمقایسه با آنتی‌بادی‌ها یا پذیرنده‌های سلول Bکه می‌توانند یک آنتی‌ژن را به تنهایی تشخیص دهند، پذیرنده‌های سلولT تنها آنتی‌ژنی را تشخیص می‌هند که پردازش شده و همراه مولکول‌های کد شده توسط مجموعه اصلی سازگاری بافتی (MHC) عرضه شده باشند. اولین بار که MHC مورد بررسی قرار گرفت، به عنوان کمپلکس ژنتیکی شهرت یافت که برروی توانایی یک ارگانیسم در پذیرش یا رد بافت پیوندی تأثیر می‌گذارد. مطالعات اولیه توسط زینکرناگل، دوهرتی و بناسراف نشان داد که مولکول های کد شده توسط MHC، نقش اساسی در تعیین پاسخ‌های ایمنی اکتسابی دارند و مجموعه خاصی از مولکول‌های MHC که توسط یک فرد عرضه می‌شوند، برروی گنجینه آنتی‌ژن‌هایی که سلول‌های T_H و T_C فرد به آن پاسخ می‌دهند تأثیر می‌گذارند. MHC بر روی پاسخ یک فرد به آنتی‌ژن‌های ارگانیسم عفونت‌زا اثر گذاشته و از این رو در استعداد ابتلا به بیماری‌هایی نظیر خودایمنی دخیل می‌باشد. سلول‌های NK پذیرنده‌هایی برای آنتی‌ژن‌های MHC-I عرضه می‌کنند و این واقعیت که تعامل MHC پذیرنده می‌تواند موجب مهار یا فعال شدن آنها شود، نقش این خانواده ژنی را آشکار ساخت.

- سازمان‌دهی و وراثت MHC

تمام گونه‌های پستانداران که تا به حال مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، گروهی از ژن‌های کاملاً مرتبط به هم با نام MHC دارند که محصولات آنها در شناسایی بین سلول‌ها و در

www.bbooks.ir

تشخیص خودی از غیر خودی نقش اساسی ایفا می‌کنند. با مشاهده پس‌زدن بافت بیگانه در نتیجه یک پاسخ ایمنی به مولکول‌های سطحی سلول، بررسی این گروه از ژن‌ها آغاز شد و اکنون آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی خوانده می‌شوند. در دهه ۱۹۴۰ و ۱۹۵۰ آزمایشات اسنل آشکار ساخت که آنتی‌ژن‌هایی که توسط ژن‌های گروه II کد می‌شوند سبب پس زدن تومورهای پیوندی و سایر بافت‌ها می‌گردند. اسنل این ژن‌ها را ژن‌های سازگاری بافتی نامید.

- MHC سه رده اصلی از مولکول‌ها را کد می‌کند

مجموعه اصلی سازگاری بافتی، گروهی از ژن‌ها می‌باشند که بر روی DNA کروموزوم ۶ انسان و ۱۷ موش آرایش یافته است. MHC در انسان به عنوان مجموعه HLA و در موش به عنوان مجموعه H-2 شناخته می شود (شکل ۱-۸).

Mouse H-2 complex

Complex	H-2						
MHC class	I	II		III		I	
Region	K	IA	IE	S		D	
Gene products	H-2K	IA αβ	IE αβ	C′ proteins	TNF-α TNF-β	H-2D	H-2L

Human HLA complex

Complex	HLA							
MHC class	II			III		I		
Region	DP	DQ	DR	C4, C2, BF		B	C	A
Gene products	DP αβ	DQ αβ	DR αβ	C′ proteins	TNF-α TNF-β	HLA-B	HLA-C	HLA-A

شکل ۱-۸: سازمان یافتگی ساده مجموعه اصلی سازگاری بافتی (MHC) در انسان و موش.

- ژن‌های MHC رده II ، گلیکوپروتئین‌هایی را کد می‌کنند که بر روی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن بیان شده و در عرضه پپتیدهای آنتی‌ژنی به سلول‌های T_H دخالت دارند.

www.bbooks.ir

- ژن‌های MHC رده III پروتئین‌های ترسحی مختلفی را کد می‌کنند که عملکرد ایمنی دارند وشامل اجزای سیستم کمپلمان ومولکول‌های دخیل در التهاب می‌باشند.

مولکول های MHC-I که توسط نواحی K و D در موش و جایگاه A، B و C در انسان کد می‌شوند، اول کشف شدند و به میزان زیادی در انواع سلول‌ها عرضه شده و به عنوان مولکول‌های کلاسیک رده I شناخته می‌شوند. این ژن‌ها و یا گروه‌های دیگری از ژن‌های مجموعه HLA نیز مولکول‌های رده I را کد می‌کنند، این‌ها به ژن‌های غیر کلاسیک رده I تعلق دارند. بیان محصولات ژن غیر کلاسیک رده I، منحصر به انواع خاصی از سلول‌ها می‌باشد. اگر چه عملکرد تمام این محصولات ژنی شناخته شده نیست ولی برخی از آنها نقش‌های بسیار مهمی در ایمنی دارند. به عنوان مثال مولکول‌های HLA-G بر روی تروفوبلاست‌ها عرضه می‌شوند تا جنین به عنووان بیگانه شناسایی نشود و همچنین بوسیله سلول‌های T_C مادری پس زده نشود. دو زنجیره مولکول‌های MHC-II توسط نواحی IE و IA در موش و DP ، DQ و DR در انسان کد می‌شوند. این واژه‌های تخصصی گاهی گیج‌کننده می‌باشند، زیرا ناحیه D در موش مولکول‌های MHC-I را کد می‌کنند درحالی‌که DP، DQ و DR در انسان به ژن‌ها و مولکول‌های رده II اتلاق می‌شوند.

مولکول‌های رده I و II اشکال ساختاری مشترکی دارند و هردو در پردازش و عرضه آنتی‌ژن نقش دارند. در مقابل، ناحیه MHC-III که در بین نواحی I و II می‌باشد، مولکول‌هایی را کد می‌کند که عملکرد ایمنی حیاتی می‌باشند. این محصولات شامل اجزای C2 و C4 کمپلمان و فاکتور B و چندین سایتوکاین التهابی مثل TNF می‌باشد.

- اشکال آللی ژن‌های MHC در گروه‌هایی پیوسته با نام‌های پلوتایپ به ارث می‌رسند

جایگاه تشکیل دهنده MHC، بسیار پلی‌مورف می‌باشد. ژن‌های جایگاه MHC در مجاورت یکدیگر می‌باشند، برای مثال شیوع نوترکیبی بیان مجموعه H-2 تنها ۰/۵٪ می‌باشد، بدین

www.bbooks.ir

معنی که کراسینگ‌اور تنها یک‌بار در هر ۱۰۰ چرخه میوزی رخ می‌دهد. بدین دلیل، بسیاری از افراد،آلل‌هایی دارند که در جایگاههی به هم‌پیوسته وکد شده توسط دوسری (هرکدام از یک والد) به ارث می‌رسند. هرمجموعه از این آلل‌ها به عنوان یک هاپلوتایپ می‌باشند؛ یک فرد، یک هاپلوتایپ از مارد و یک هاپلوتایپ از پدر به ارث می‌برد. در جمعیت‌های (outbred) عموماً زاده‌ها در بسیاری از جایگاهها هتروزیگوت بوده و هر دو آلل‌های پدری و مادری همسان بوده و از این رو تمامی فرزندان، هاپلوتایپ‌های یکسان را عرضه می‌کنند (جدول ۱-۸).

TABLE 8-1 H-2 haplotypes of some mouse strains

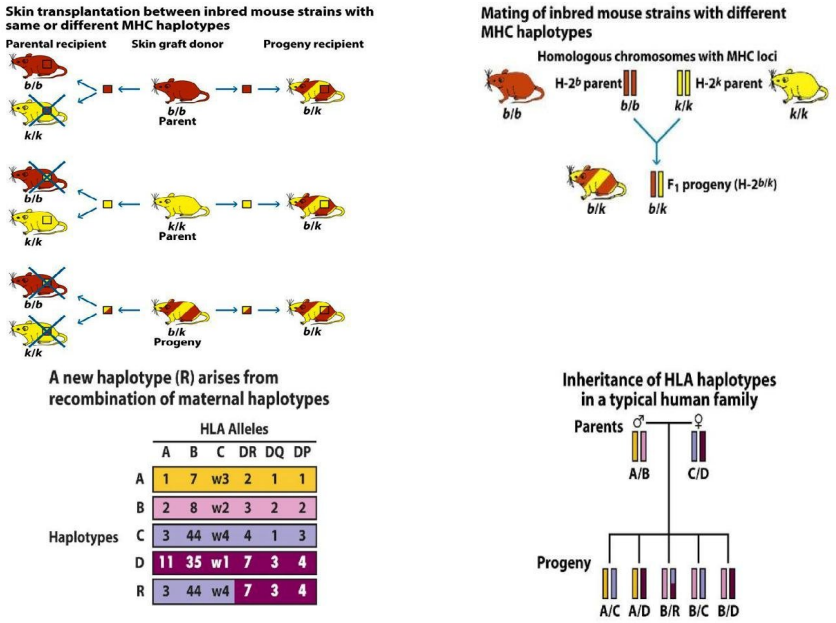
Prototype strain	Other strains with the same haplotype	Haplotype	H-2 ALLELES K	IA	IE	S	D
CBA	AKR, C3H, B10.BR, C57BR	*k*	*k*	*k*	*k*	*k*	*k*
DBA/2	BALB/c, NZB, SEA, YBR	*d*	*d*	*d*	*d*	*d*	*d*
C57BL/10 (B10)	C57BL/6, C57L, C3H.SW, LP, 129	*b*	*b*	*b*	*b*	*b*	*b*
A	A/He, A/Sn, A/Wy, B10.A	*a*	*k*	*k*	*k*	*d*	*d*
B10.A (2R)*		*b2*	*k*	*k*	*k*	*d*	*b*
B10.A (3R)		*i3*	*b*	*b*	*k*	*d*	*d*
B10A. (4R)		*b4*	*k*	*k*	*b*	*b*	*b*
A.SW	B10.S, SJL	*s*	*s*	*s*	*s*	*s*	*s*
A.TL		*t1*	*s*	*k*	*k*	*k*	*d*
DBA/1	STOLI, B10.Q, BDP	*q*	*q*	*q*	*q*	*q*	*q*

*The R designates a recombinan: haplotype, in this case between the H-2^a and H-2^b types. Gene contribution from the *a* strain is shown in yellow and from the *b* strain in red.

سویه‌های مختلف در ونزا ممکن است هاپلوتایپ‌هیا MHC یکسان داشته و به عنوان سویه پروتوتایپ تلقی شوند. برای مثال سویه‌های CBA، AKR و C3H همگی دارای هاپلوتایپ‌های یکسان MHC (H-2^k) می‌باشند. به هر حال این سه سویه مختلف، در ژن‌های خارج از مجموعه H-2 با یکدیگر متفاوت می‌باشند. اگر دو سویه موش درون‌زا با MHC متفاوت با یکدیگر آمیزش کنند، زاده‌های نسل اول، هاپلوتایپ‌های هر دو والد را به ارث می‌برند و بنابراین هر دو آلل والدی را در هر یک از جایگاههای بیان می‌کنند. برای مثال، در صورتی که سویه H-2^b با یک سویه H-2^k جفت‌گیری کند، نسل اول هر دو مجموعه آللی را به ارث برده و به صورت H-2$^{b/k}$ مشخص می‌شوند (شکل ۲-۸). از

www.bbooks.ir

آنجایی که زاده‌های نسل اول، پروتئین‌های MHC هر دو سویه والد را بر روی سلول‌های خود عرضه می‌کنند، با هر دو سویه از نظر بافتی سازگار بوده و قادر به پذیرش پیوند از هر یک از سویه‌های والد می‌باشند(شکل ۲-۸). به هرحال، هیچ یک از سویه‌های درون‌زای والد نمی‌توانند از موش‌های نسل اول پیوند دریافت کنند زیرا نیمی از مولکول‌های MHC، برای هر والد بیگانه خواهد بود. وراثت‌ها پلوتایپ‌های HLA والدین هتروزیگوت انسانی در شکل ۲-۸ نمایش داده شده است.



شکل ۲-۸: مثالی از هاپلوتایپ های MHC در سویه های موش های درون زا. (a) واژه b/b نشان دهنده این است که موش برای هاپلوتایپ $H\text{-}2^b$ هموزیگوت می باشد و موش b/k هتروزیگوت است. (b) رد یا پذیرش پیوند پوست تحت کنترل MHC می باشد. (c) وراثت هاپلوتایپ HLA انسان در یک خانواده فرضی. (d) ژن های هر کدام از هاپلوتایپ های والدین بخش c. R نشان دهنده نوترکیبی در هاپلوتایپ های والدی می باشد.

www.bbooks.ir

- سویه‌های موش درون‌زا، اهدافی جهت بررسی MHC می‌باشند

سویه‌های موش درون‌زا، هم‌نژاد (سین‌ژن) می‌باشند و در تمام جایگاههای ژنی، مشابه می‌باشند. در صورتی که دو سویه کانژن، به جز در یک جایگاه یا ناحیه ژنی، در مابقی جایگاهها با هم یکسان می‌باشند. هر اختلاف فنوتیپی که بتوان بین سویه‌های کانژن، به جز در یک جایگاه یا ناحیه ژنی، در مابقی جایگاهها با هم یکسان می‌باشند. هر اختلاف فنوتیپی که بتوان بین سویه‌های کانژن تشخیص داد، در ارتباط با نواحی ژنی می‌باشد که دو سویه با یکدیگر اختلاف دارند. سویه‌های کانژن مشابه (به جز در Mtr) رامی‌توان توسط یک‌سری کراس‌ها، یک کراس‌ها و گزینش بین دو سویه درون‌زای متفاوت در MHC، تولید کرد. سویه کانژن Blo.A که به طور رایج استفاده می‌شود، ازموش‌های H- Bio) (2^b مشتق می‌شود. اما دارای هاپلوتایپ $H\text{-}2^a$ می‌باشد. در چندین مورد، هاپلوتایپ‌های نوترکیبی در در موش‌های کانژن مشاهده می‌شود که امکان مطالعه برخی از ژن‌های MHC و محصولات آن‌ها را فراهم می‌آورد. مثال‌هایی از این مورد در جدول ۱-۸ ذکر شده است. برای مثال، سویه Blo.A (2R) دارای تمام ژن‌های MHC از هاپلوتایپ a می‌باشند (به جز ناحیه D) که از والدین $H\text{-}2^b$ مشتق می‌شود. با ایجاد سویه‌های مختلف موش با ژن تخریب شده،می‌توان عملکرد محصولات MHC را بهتر شناخت. یکی از ساده‌ترین نمونه‌ها، سویه‌ای می‌باشد که در آن ژن β2 میکروگلبولین حذف شده و بنابراین عرضه مولکول‌هایMHC-I در سطح اکثر سلول‌ها مهار می‌شود.

- ژن‌ها و مولکول‌های MHC

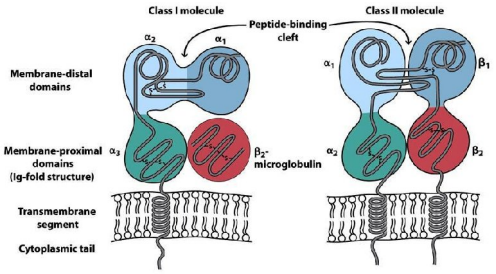
مولکول‌های MHC کلاس I و II گلیکوپروتئین‌های غشایی بوده که ساختار و عملکرد آنها کاملاً شبیه به هم می‌باشند. مولکول‌های MHC کلاس I و II خالص‌سازی شده و ساختار سه بعدی دومن‌های خارج سلولی‌آنها توسط بلورنگاری پرتو X تعیین شده است. هر دو نوع گلیکوپروتئین‌های غشایی به صورت مولکول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن بسیار تخصصی

www.bbooks.ir

یافته عمل کرده ومجموعه‌های غیر معمول و پایداری از لیگاندهای پپتیدی به وجود می‌آورند که آنها را در سطح سلول‌و جهت تشخیص توسط سلول‌های T عرضه می‌کنند.

- مولکول‌های کلاس I، یک زنجیره سنگی گلیکوپروتئینی و یک زنجیره سبک پروتئینی دارند

مولکلوهای MHC دارای یک زنجیره ۴۵α کیلودالتونی می‌باشند که به طور غیر کووالان به مولکول β2 میکروگلبولین ۱۲ کیلودالتونی متصل می‌شوند (شکل ۳-۸).

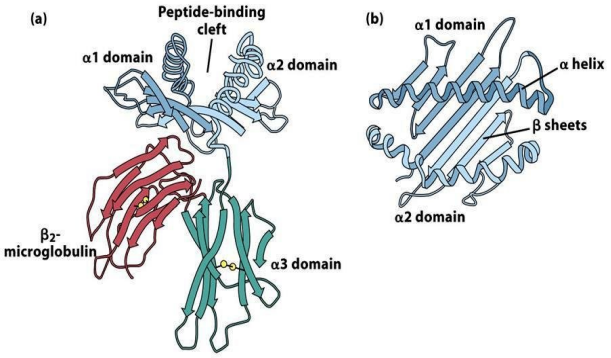


شکل ۳-۸: دیاگرام شماتیکی از MHC-I و MHC-II که دارای دومن های خارجی، قطعات غشاگذر و دم سیتوپلاسمی می باشند. شیار متصل شونده به پپتید از دومن های دیستال غشایی تشکیل شده است.

زنجیره α یک گلیکوپروتئین غشاگذر می‌باشد که توسط ژن‌های پلی‌مورف در نواحی B،A و C مجموعه HLA انسانی و نواحی D,K مجموعه H-2 موش کد می‌شود(شکل ۱-۸). β2 میکروگلبولین، پروتئینی بسیار حفاظت شده می‌باشد که توسط یک ژن در کروموزوم دیگری کد می‌شود. زنجیره α توسط قطعات غشاگذر آبگریز و دم سیتوپلاسمی آبدوست، در غشای پلاسمایی پایدار شده است. آنالیز ساختاری نشان می‌دهد که زنجیره α مولکول‌های MHC-1 در سه دومن خارجی (α3, α2, α1) (هریک تقریباً ۹۰ اسید آمینه)، یک دومن غشاگذر (حدود ۲۵ اسید آمینه آبگریز) به همراه یک زنجیره کوتاه اسید آمینه‌های باردار و یک قطعه داخل سیتوپلاسمی (۳۰ اسید آمینه) سازمان یافته‌اند.

www.bbooks.ir

β-2 میکروگلبولین در اندازه و سازمان‌یافتگی شبیه دومن α3 بوده و ناحیه غشاگذر ندارد و به صورت غیرکووالان به گلیکوپروتیئن کلاس I متصل شده است(شکل ۴-۸). دومن‌های α2,α1 به منظور تشکیل یک شیار (یک صفحه با ۸ رشته موازی ناهمسویβ که توسط دو مارپیچ α دو طرف و صفحات β در کف را به وجود می‌آورد (شکل ۴-۸).



شکل ۴-۸: شمایی از ساختار سه بعدی دومن خارجی مولکول MHC-I انسان بر اساس تحلیل بلورنگاری اشعه x (a) رشته های β به صورت پیکان های ضخیم و مارپیچ های α به صورت نوارهای فنری و اتصالات دی سولفید به صورت کروی شکل مشخص شده اند. دومن های α1 و α2 با یکدیگر واکنش داده و شیار متصل شونده به پپتید را به وجود می آورند. به ساختار چین Ig دومن α3، α2 و β2 میکروگلبولین توجه کنید. (b) دومن های α1 و α2 شیار متصل شونده به پپتید را به وجود آورده و حاوی رشته های موازی ناهمسو β می باشند.

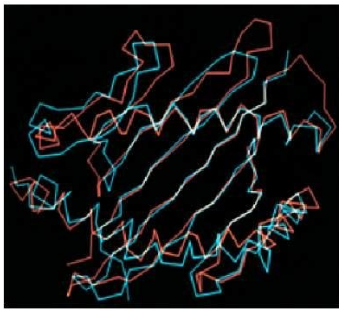
شیار متصل شونده به پپتید، در سطح بالایی مولکول MHC-I قرار گرفته و به اندازه کافی بزرگ می‌باشدتا به پپتیدی با ۱۰-۸ اسید آمینه متصل شود. دومن‌های α3 و β-2 میکروگلبولین از دو صفحه مسطح با رشته‌های موازی ناهمسو β تشکیل شده‌اند. مولکول‌های MHC-I و β-2 میکروگلبولین به عنوان اعضایی از خانواده بزرگ ایمونوگلبولین طبقه‌بندی می‌شوند (شکل ۲۳-۴). به نظر می‌رسد دومنα3 و همچنین با اسید آمینه‌های دومن α1 و α2 برهمکنش می‌دهد. تصور می‌شود تجمع مولکول‌های

www.bbooks.ir

کلاسI در ابتدا با برهمکنش میان β2 میکروگلبولین و زنجیره αرخ می‌دهد. این دایمر توخالی بسیار ناپایدار بوده و پس از اتصال یک پپتید مناسب پایدار می‌شود.

- مولکول‌های کلاس II، دو زنجیره گلیلوپروتئینی غیرهمسان دارند

مولکول‌های MHC-II دارای دو زنجیره پلی‌پپتیدی متفاوت می‌باشند، یک زنجیر ۳۳ کیلودالتونی α و یک زنجیره ۲۸ کیلودالتونی β که از طریق پیوندهای غیرکووالان به یکدیگر متصل می‌شوند (شکل ۳-۸ راست). نظیر زنجیره‌های α کلاس I، مولکول‌های MHC-II نیز گلیکوپروتئین‌های غشایی می‌باشند که دارای دومن‌های خارجی، یک قطعه غشاگذر و یک قطعه داخل ستیوپلاسمی می‌باشند. هر زنجیره در مولکول کلاس II دارای دو دومن خارجی (α1 و α2 در یک زنجیره و دومن‌های β1 و β2 در زنجیره دیگر) می‌باشند. دومن‌های α2 و β2 مجاور غشا دارای شباهت ساختاری با چین ایمونوگلبولین می‌باشند؛ بدین دلیل، مولکول‌های MHC-II نیز در خانواده بزرگ ایمونوگلبولین دسته‌بندی می‌شوند. زمانی که مولکول‌های کلاس I و II روی یکدیگر منطبق می‌شوند، شباهت ساختاری آنها آشکار می‌شود (شکل ۵-۸).



شکل ۵-۸: شیار متصل شونده به پپتید یک مولکول MHC-II انسانی (HLA-DR1) که متناظر با نواحی مولکول MHC-I (HLA-A2) می باشد.

www.bbooks.ir

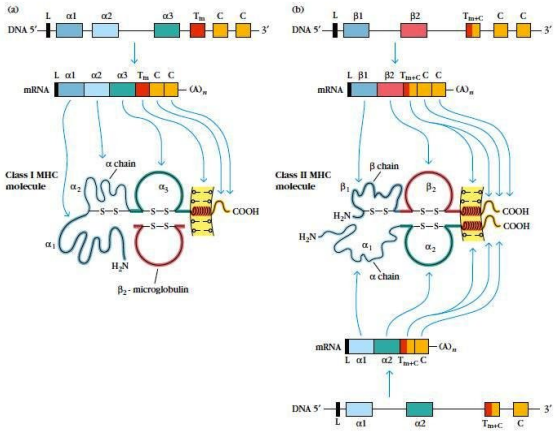
شیار متصل به پپتید HLA-DR1 از یک کف با ۸ رشته موازی ناهمسویβ و لبه‌های مارپیچ α موازی ناهمسو تشکیل شده است با این وجود، مولکول‌های کلاسII فاقد بخش‌های حفاظت شده موجود در مولکول‌های کلاس I می‌باشند و در عوض شیار بازی را تشکیل می‌دهند.

- مولکول‌های کلاس I و II در ناحیه اتصال به پپتید، پلی‌مورفیسم نشان می‌دهند

صدها واریانت آللی مختلفی از مولکول‌های MHC کلاس I و II در انسان شناسایی شده‌است. با این وجود، هر فرد تنها شمار اندکی از این مولکول‌ها را عرضه می‌کند(بیش از ۶ مولکول مختلف کلاس I و بیش از۱۲ مولکول مختلف کلاس II). همین تعداد اندک و محدود مولکول‌های MHC قادرند میزان قابل توجهی از پپتیدهای آنتی‌ژن مختلف را به سلول‌های T عرضه کنند و این امکان را برای سیستم ایمنی فراهم آورند تا به طور اختصاصی به بسیاری از عوامل آنتی‌ژنی پاسخ دهد.

یک مولکول MHC معین می‌تواند به چندین پپتید متفاوت اتصال یابد و برخی پپتیدها نیز می‌توانند به چندین مولکول MHC مختلف متصل شوند. به علت این ویژگی، اتصال بین یک پپتید و یک مولکول MHC اغلب، بی‌قاعده خوانده می‌شود. ساختار شیار متصل به پپتید در مولکول‌های MHC کلاس I و II شباهت‌هایی دارند (جدول ۲-۸).

www.bbooks.ir



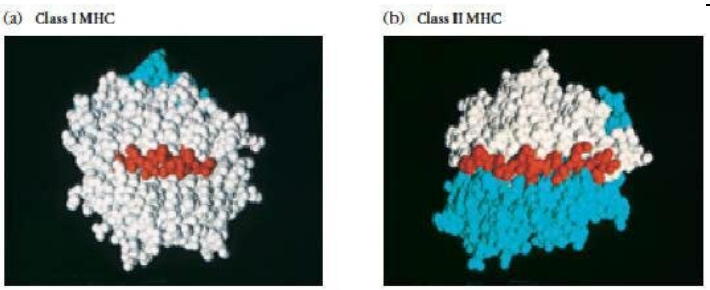
شکل ۶-۸: دیاگرام شماتیکی از ژن های MHC-I و MHC-II (به ترتیب a و b) رونوشت های mRNA و مولکول های پروتئین. بین اگزون ها و دومن های محصولات ژنی یک تناسب وجود دارد. رونوشت های mRNA پردازش شده و توالی های اینترون از آنها حذف می شوند.

TABLE 8-2 Peptide binding by class I and class II MHC molecules

	Class I molecules	Class II molecules
Peptide-binding domain	α1/α2	α1/β1
Nature of peptide-binding cleft	Closed at both ends	Open at both ends
General size of bound peptides	8–10 amino acids	13–18 amino acids
Peptide motifs involved in binding to MHC molecule	Anchor residues at both ends of peptide; generally hydrophobic carboxyl-terminal anchor	Anchor residues distributed along the length of the peptide
Nature of bound peptide	Extended structure in which both ends interact with MHC cleft but middle arches up away from MHC molecule	Extended structure that is held at a constant elevation above the floor of MHC cleft

در مورد هر دو نوع مولکول MHC، لیگاندهای پپتیدی چنان گسترش می‌یابند که در سرتاسر طول شکاف قرار می‌گیرند. شیار متصل به پپتید در مولکول‌های کلاس I در هر دو انتها مسدود می‌باشد. در حالی که در مولکول‌های کلاسI در هر دو انتها مسدود می‌باشد. در حالی که در مولکولی‌های کلاس II ، این شیارباز می‌باشد (شکل ۷-۸).

www.bbooks.ir



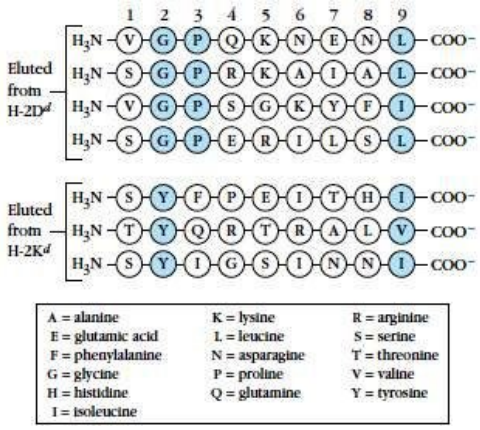
شکل ۷-۸: مولکول های MHC-I و II با پپتیدهای متصل به آنها. (a) مدل فضا پرکن مولکول HLA-A2 به همراه پپتید حاصل از ترانس کریپتاز معکوس HIV در شیار اتصالی. (b) مدل فضا پرکن مولکول HLA-DR1 به همراه پپتیدی از هماگلوتینین آنفولانزا در شیار متصل شونده به پپتید آن.

- برهمکنش پپتید – MHC-I

مولکول‌های MHC-I به پپتیدها متصل شده و آنها را به سلول‌های $CD8^{+}T$ عرضه می‌کنند. عموماً این پپتیدها از پروتئین‌های با منشأ داخلی سلولی مشتق می‌شوند. سپس این پپتیدها از سیتوزول به سیسترون شبکه اندوپلاسمی منتقل می شوند که در آنجا با مولکولهای MHC-I واکنش می‌دهند. این فرآیند به مسیر اندوژن معروف می‌باشد. هر نوع مولکول MHC-I به مجموعه منحصر به فردی از پپتیدها متصل می‌شوند. از آنجایی که یک سلول هسته‌دار خاص حدود $۱۰^{۵}$ نسخه از هر مولکول کلاسI را عرضه می‌کند، پپتیدهای بسیار متنوعی به طور همزمان بر سطح یک سلول هسته‌دار توسط مولکول MHC-I عرضه می‌شوند. در یک بررسی، پپتیدهای متصل به دو واریانت آللی مولکول MHC-I به طور شیمیایی جدا شده و با اسپکترومتری جرمی HPLC آنالیز شد. بیش از ۲۰۰۰ پپتید مختلف از این دو مولکول MHC کلاس I جدا شد. از آنجایی که تقریباً $۱۰^{۵}$ نسخه از هر واریانت آللی کلاس I در هر سلول وجود دارد، برآورد می‌شود که هریک از این ۲۰۰۰ پپتید مختلف با شیوعی بیش از ۱۰۰ تا ۴۰۰۰ نسخه در هر دو سلول عرضه می‌شوند. شواهد حاکی از آن است که حتی یک مجموعه منفرد MHC- پپتید می‌تواند به منظور هدف قرار دادن یک سلول، برای شناسایی و لیز توسط لنفوسیت Tc کافی باشد.

www.bbooks.ir

توانایی اتصال یک مولکول MHC-I به طیف گسترده‌ای از پپتیدها، در نتیجه وجود بخش‌های اسیدآمینه‌ای مشابه در چندین موقعیت مشخص در طول این پپتیدها می‌باشد (شکل ۸-۸).



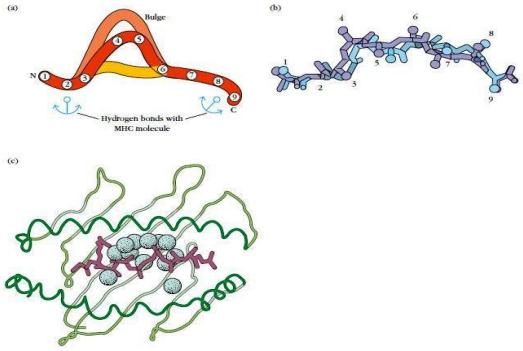
شکل ۸-۸: مثالی از زیرواحد های لنگری در پپتیدهای نانومری مربوط به دو MHC-I که دارای اسیدآمینه‌های آبگریز در انتهای خود می باشند.

از آنجایی که این بخش‌های اسیدآمینه‌ای به شیار مولکول MHC متصل می‌شوند، این بخش‌ها را بنیان‌های لنگری می‌نامند. زنجیره جانبی بنیان‌های لنگری در این پپتیدها با خصوصیات سطحی شیار مولکول MHC کلاسI، مکمل می‌باشند. تمام پپتیدهایی که تا به امروز بررسی شده و به مولکول‌های MHC-I متصل می‌شوند، دارای یک بنیان لنگری در انتهای کربوکسیل خود می‌باشند. این بینان‌ها عموماً بخش‌های آبگریز (مثل لوسین و ایزولوسین) می‌باشند، هر چند که شمار اندکی از اسیدآمینه‌های باردار نیز گزارش شده‌است. در کنار این بخش لنگری، یک بنیان لنگری دیگر نیز اغلب در موقعیت‌های دوم یا سوم انتهای آمینی این پپتیدها یافت می‌شود(شکل ۸-۸).

عموماً پپتیدهایی با طول یکسان که حاوی بخش‌های لنگری مشابه باشند به مولکول‌های MHC-I مشابه متصل خواهند شد. با شناخت بخش‌های لنگری حفاظت شده در

www.bbooks.ir

پپتیدهایی که به مولکول‌های MHC-I متفاوت متصل می‌شوند، می‌توان پیش‌بینی نمود که کدام یک از پپتیدهای یک آنتی‌ژن با یک مولکول MHC متصل خواهد شد. آنالیز بلورنگاری پرتوX مجموعه‌های پپتید –MHC کلاس I، چگونگی برهمکنش پایدار میان شیار متصل به پپتید یک مولکول MHC معین با طیف وسیعی از پپتیدهای مختلف را آشکار ساخته است. این بنیان‌های لنگری در هر دو انتهای این پپتیدها در کف شیار قرار می‌گیرند، بنابراین پپتید را محکم درجای خود نگه‌می‌دارند(شکل ۷-۸) و ترجیحاً به پپتیدهای نونامری متصل می‌شوند. بیشترین تماس‌ها بین مولکول‌های MHC-I و پپتیدها شامل زیر واحد ۲ انتهای آمینی و زیر واحد ۹ انتهای کربوکسیل پپتید می‌باشد. بین این بنیان‌های لنگری، پپتید از وسط خمیده شده و به صورت قوس در می‌آید که از کف شیار فاصله می‌گیرد (شکل ۹-۸) و این امکان را فراهم می‌آورد تا پپتیدهایی که اندکی کوتاهتر یا بلندتر می‌باشند در شیار جای بگیرند.



شکل ۹-۸: شکل گیری پپتیدهای متصل به MHC-I. دیاگرام شماتیکی از تفاوت های ساختاری در پپتیدهای اتصال یافته با طول های متفاوت.

- برهمکنش پپتید – MHC-II

مولکول‌های MHC-II به پپتیدها متصل شده و آنها را به سلول‌های T^H عرضه می‌کنند. همچون مولکول‌های کلاس I، مولکول های کلاس II نیز می‌توانند به انواع پپتیدها متصل

www.bbooks.ir

شوند. عموماً این پپتیدها از پروتئین‌های با منشأ خارجی مشتق می‌شوند که در مسیر پردازش اندوستیوزی تجریه می‌شوند. برای مثال، پپتیدهای ناشی از تجزیه مولکول‌های MHC-I غشایی، اغلب به مولکلوهای MHC-II متصل می‌شوند. پپتیدهای ایجاد شده از مجموعه‌های پپتید -MHC کلاس II حاوی ۱۳ تا ۱۸ زیر واحد اسیدآمینه می‌باشند و نسبت به پپتیدهای ۹ زیر واحدی که به طور معمول به مولکلوهای کلاس I متصل می‌شوند، طویل‌تر می‌باشند. شیار پپتید در مولکول‌های کلاس II، اغلب در هر دو انتها باز می‌باشد (شکل ۷-۸) و این امکان فراهم می‌آید تا دو انتهای پپتیدهای طویل، از شیار بیرون بماند. پپتیدهایی که به مولکول‌های MHC-II متصل می‌شوند، در کف شیار اتصالی یک برآمدگی ثابت رابه وجود می‌آورند و این خصوصیت دیگری است که اتصال پپتید به مولکول‌های کلاس I و II از یکدیگر متمایز می‌سازد.

پپتیدهایی که به یک مولکول کلاس II ویژه اتصال می‌یابند. اغلب دارای موتیف‌های با توالی داخلی حفاظت شده می‌باشند، اما علیرغم پپتیدهای کلاس I، آنها فاقد بنیان‌های لنگری حفاظت شده می‌باشند. در مقابل، پیوندهای هیدروژنی بین پپتید و مولکول کلاس II در سرتاسر جایگاه اتصال توزیع شده است و اغلب تا حدودی در انتهای این جایگاه تجمع می‌یابند. پپتیدهایی که به مولکول‌های MHC-II متصل می‌شوند دارای یک توالی داخلی ۱۰-۷ اسیدآمینه‌ای می‌باشند که بیشترین نقاط تماس را به وجود می‌آورد.

- در یک گونه، مولکول‌های کلاس I و II متنوع می‌باشند و در یک فرد اشکال چندگانه ایجاد می‌کنند

MHC در هر جایگاه دارای شمار بسیاری آلل متفاوت بوده و یکی از پلی‌مورف‌ترین مجموعه‌های ژنتیکی شناخته شده در مهره‌داران عالی می‌باشد و این آلل‌ها در توالی DNA خود ازیک فرد به فرد دیگر ۵ تا ۱۰ درصد متفاوت می‌باشند. آنالیز ژن‌های HLA کلاس I در سال ۲۰۰۶، حدود ۳۷۰ آلل A، ۶۶۰ آلل B و ۱۹۰ آللC را آشکار ساخت. این

www.bbooks.ir

پلی‌مورفیسم تا حد زیادی شبیه به موش می‌باشد. ژن‌های کلاس II انسان نیز پلی‌مورفیسم بالایی داشته و در برخی موارد، افراد مختلف، تعداد متفاوتی از این ژن‌ها را دارند. شمار ژن‌های زنجیره β در HLA-DR (DRB)ممکن است از ۲ تا ۹ عدد در هاپلوتایپ‌های مختلف، متغیر باشد و تقریباً ۴۸۰ آلل در ژن‌های DRB گزارش شده است. جالب این که زنجیره DRA بسیار حفاظت شده است و تنها سه آلل مختلف از آن گزارش شده است. برآوردهای معمول درباره پلی‌مورفیسم MHC انسان، احتمالاً یک طرفه بوده است زیرا اکثر داره‌ها از جمعیت اروپایی به دست آمده‌اند. این حقیقت که بسیاری از گروههای جمعیت غیراروپایی را نمی‌توان با استفاده از معرف‌های سرولوژی تعیین نمود، حالی از آن است که تنوع جهانی ژن‌های MHC بسیار بیشتری می‌باشد. امروزه ژن‌های MHC را می‌توان مستقیماً تعیین توالی نمود و انتظار می‌رود تا آلل‌های دیگری نیز شناسایی شوند. این پلی‌مورفیسم قابل توجه،موجب تنوع گسترده مولکول‌های MHC در یک گونه می‌شود. با استفاده از فرم‌های آللی HLA-C,B,A انسان، می‌توان از لحاظ تئوری تعداد اجزایی که در نتیجه ضرب۳۷۰×۱۹۰×۶۶۰ به وجود می‌آید را محاسبه نمود و نشان داد که بیش از ۴۶ میلیون هاپلوتایپ مختلف رده I در این جمعیت امکان پذیر است. در صورتی که جایگاه کلاس II بررسی شود. ۵ ژنی که زنجیره β را کد می‌کنند به ترتیب دارای ۴۰۰، ۱، ۴۲، ۱۳، ۱۸آلل می‌باشند. DQA1 و B1 به ترتیب دارای ۲۸ و ۶۲ آلل و DPB1 دارای۱۱۸آلل می‌باشد و این تقریباً "۱۰×۸ ترکیب کلاس II مختلف را به وجود می‌آورد. از آنجایی که هر هاپلوتایپ دارای ژن‌هایی ازکلاس I و II می‌باشد، امکان ازدیاد آلل‌های کلاس I و II را تقریباً به ۴×۱۰^{۱۹} می‌رساند.

- عدم تعادل ناشی از پیوستگی ژن‌ها

محاسبات پاراگراف قبل، منجر به تولید تعداد بسیار بالای هاپلوتایپ‌های HLA می‌شود که ترکیبات کاملاً تصادفی از آلل‌ها می‌باشند. تنوع واقعی، کمتر از این مقدار می‌باشد زیرا

www.bbooks.ir

برخی ترکیبات آللی، اغلب در هاپلوتایپ‌های HLA نسبت به ترکیبات تصادفی پیش‌بینی شده بیشتر رخ می‌دهند؛ و حالتی است که به آن عدم تعادل ناشی از پیوستگی ژن‌ها اتلاق می‌شود.

به طور خلاصه می‌توان گفت که عدم تعادل ناشی از پیوستگی ژن‌ها، اختلاف بین فراوانی مشاهده شده در ترکیب خاصی ازآلل‌ها و فراوانی پیش‌بینی شده آلل‌های افراد می‌باشد.

فراوانی پیش‌بینی شده این ترکیبات را می‌توان با ضرب فراوانی‌های در آلل محاسبه کرد. برای مثال، در صورتی که HLA-A1 در ۱۶٪ افراد جامعه رخ دهد و HLA-B8 در۹٪ گروه رخ دهد، انتظار می‌رود حدود ۱/۴٪ این گروه هر دو آلل را داشته باشند. با این وجود، داده‌ها نشان می‌دهند HLA-A1 و HLA-B8 در ۸/۸٪ افراد مورد مطالعه حضور دارند. این تفاوت، مقیاسی از عدم تعادل پیوستگی بین آلل‌های ژن MHC-I می‌باشد.

هاپلوتایپ‌هایی که امروزه بیش از حد در جمعیت بارز می‌شوند، بازتابی از ترکیبات آلل‌های موجود در این جمعیت می‌باشند. دیگر این‌که، اثرات انتخابی ممکن است موجب فراوانی بالای برخی از ترکیبات آللی شود. برای مثال، برخی ترکیبات آللی می‌توانند مقاومت به بیماری خاصی را به وجود آورند که این امر موجب شده تا بدین منظور انتخاب شوند و از این رو بیش از حد بارز می‌گرند.

در مقابل هاپلوتایپ‌هایی که به میزان کافی عرضه نمی‌شوند ممکن است تحت گزینش منفی قرار گرفته باشند. زیرا اثرات مضری نظیر استعداد ابتلا به اختلالات خود ایمنی را نشان می‌دهند. فرضیه سوم این است که کراسینگ‌اورها اغلب در نواحی خاصی از DNA رخ می‌دهند (نقاط داغ) و حضور یافقدان این نواحی در میان آلل‌ها، فراوانی آللی را موجب می‌شود.

علیرغم عدم تعادل ناشی از پیوستگی ژن‌ها، پلی‌مورفیسم قابل توجهی در MHC انسان وجود دارد. این پلی‌مورفیسم ناشی از نوترکیبی، جهش‌های نقطه‌ای و تبدیل ژنی می‌باشد که هر کدام در تنوع ژن‌های MHC در یک جمعیت دخیل می‌باشند.

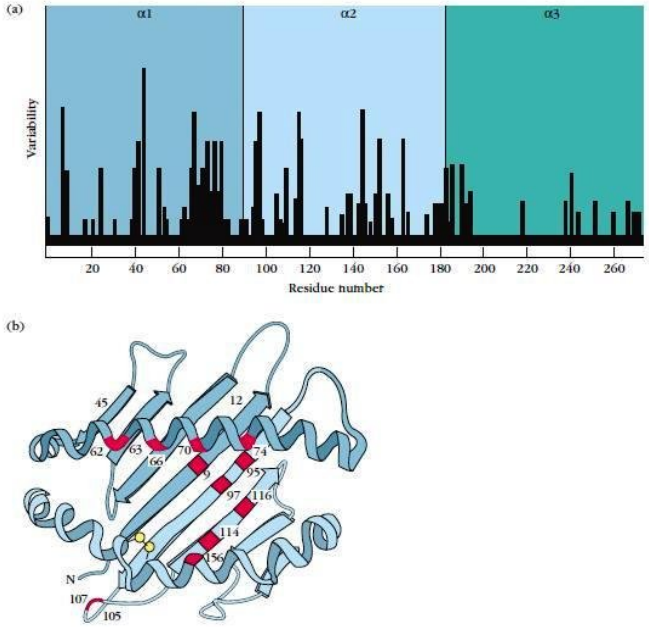
www.bbooks.ir

- بین پلی‌مورفیسم MHC و عملکرد آن ارتباط وجود دارد

تنوع توالی در بین آلل‌های MHC در یک گونه بسیار زیاد می‌باشد و بیش از تنوعی است که در ژن‌های کد کننده برخی آنزیم‌ها در بین گونه‌ها مشاهده می‌شود. همچنین جالب است که تغییرات توالی در بین مولکول‌های MHC به طور تصادفی در سرتاسر زنجیره‌های پلی‌پپتیدی توزیع نشده است بلکه به صورت توده‌ای و در یک ناحیه خاص وجود دارد که عمدتاً در دومن‌های $\alpha1$ و $\alpha2$ دور از غشای مولکولهای کلاس I قرار گرفته‌اند (شکل ۱۰-۸).

الگوهایی مشابه با این تغییرپذیری، در دومن‌های $\beta1$ و $\alpha1$ مولکول‌های کلاس I نیز مشاهده می‌شود. مقایسه ساختاری زیر واحدهای پلی‌مورف در ساختار سه بعدی دومن‌های دور از غشای مولکول‌های MHC کلاس I و II نشان می‌دهد که بین تفاوت‌های آللی و ساختاری ارتباط مشخصی وجود دارد (شکل ۱۰-۸). برای مثال، از ۱۷ اسیدآمینه که در پلی‌مورفیسم مولکولHLA-A2 دخالت دارند، مشخص شده که ۱۵ اسید آمینه در شیار اتصال به پپتید این مولکول قرار دارند.

www.bbooks.ir

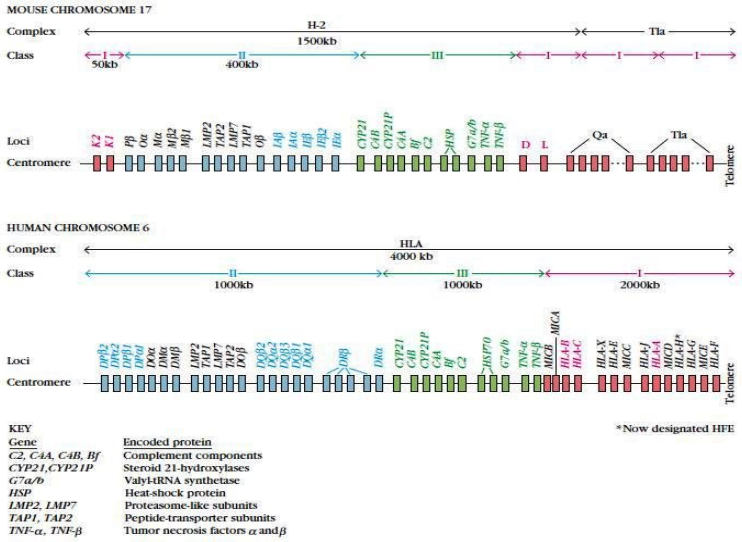


شکل ۱۰-۸: (a) طرح تغییرپذیری در توالی های اسیدآمینه مولکول MHC-I آللی در انسان بر حسب موقعیت زیرواحدها. (b) موقعیت زیرواحدهای پلی مورف در دومن α1/α2 مولکول MHC-I انسانی.

- نقشه برداری ژنوم از ژن‌های MHC

طول MHC در DNA موش ۲۰۰۰ کیلوباز و در انسان ۴۰۰۰ کیلوباز می‌باشد. توالی ژنوم کامل انسان نشان می‌دهد که این ناحیه، بصورت دسته‌ای متراکم از ژن‌ها می‌باشد که اغلب آنها اعمال شناخته شده‌ای دارند و شکل ۱۱-۸ سازمان‌یابی ژن های MHC را در انسان و موش نشان می‌دهد.

www.bbooks.ir



شکل ۱۱-۸: نقشه ژنومی دقیق از MHC انسان و موش که شامل ژن های کدکننده مولکول های MHC کلاسیک و غیرکلاسیک می باشد.

- طول ناحیه کلاس I انسان در انتهای تلومری مجموعه HLA حدود ۲۰۰۰ کیلوباز می‌باشد

ناحیه MHC-I در انسان حدود۲۰۰۰kbبوده و تقریباً شامل ۲۰ ژن می‌باشد. در موش MHC-I از دو ناحیه تشکیل شده که توسط نواحی کلاس II و III از یکدیگر جدا شده‌اند. ژن‌هایی که مولکول‌های MHC-I کلاسیک را کد می‌کنند (HLA-A1 ، C,B در انسان و H-2k ، H-2D و H-2L در موش) در ناحیه کلاسI قرار دارند. درموش، ژن‌های غیرکلاسیک رده I در سه ناحیه (M, T, H-2k) قرار گرفته که در پایین دست مجموعه H-2 قرار دارند (شکل ۱۱-۸). ژن‌های کلاس I غیر کلاسیک در انسان شامل HLA-E ، F، G، J، X و HFE می‌باشد و همچنین خانواده‌ای از ژن‌ها که به تازگی شناخته شده و MIC نام دارند (MICA تا MICE) را شامل می‌شوند.

www.bbooks.ir

مولکول‌های موشی که توسط جایگاه H-2M کد می‌شوند قادرند به یک پپتید خودی مشتق از زیر واحد NADH دهیدروژناز اتصال یابند. این پپتید خودی دارای یک متیونین فرمیله در انتهای آمین خود می‌باشد. جالب توجه این که اغلب پپتیدهای مشتق از ارگانیسم‌های پروکاریوتی، در انتهای آمینی خود بنیان‌های فرمیل متیونین دارند. بنابراین، مولکول کلاس I کد شده توسط H-2M ممکن است در عرضه پپتیدهای ارگانیسم‌های پروکارتویی دخیل باشد.

- ژن‌های MHC-II در انتهای سانترومری قرار دارند

ناحیه MHC-II شامل ژن‌هایی است که زنجیره‌های α و β را در انسان و موش کد می‌کنند. نقشه برداری مولکولی MHC-II چندین ژن زنجیره β را در برخی نواحی در موش و انسان آشکار ساخته است که نظیر ژن‌های چندگانه زنجیره α در انسان می‌باشند(شکل ۱۱-۸). برای مثال در ناحیه DR، ۳ تا ۴ ژن عملکردی زنجیرهβ وجود دارد. همچنین ژن‌های کد کننده مولکول های MHC-II غیر کلاسیک در موش و انسان شناسایی شده‌اند. در موش، چندین ژن کلاس II (O_α ، O_β، M_α و M_β) مولکول‌های MHC غیر کلاسیکی را کد می‌کنند که پلی‌مورفیسم اندکی نشان می‌دهند و نسبت به مولکلوهای کلاسیک IE و IA ، الگوی بیان متفاوتی دارند. در ناحیه کلاس II انسان، ژن‌های غیر کلاسیک DO و DM شناسایی شده است.

- ژن‌های MHC-III انسان مابین کلاس I و II قرار گرفته‌اند

این ژن‌ها در انسان و موش شامل مجموعه ناهمگنی اززِ ژن‌ها می‌باشند (شکل ۱۱-۸). این ژن‌ها اجزای متعددی از کمپلمان، دو ۲۱-هیدروکسیلاز استروئیدی، دو پروتئین شوک حرارتی و دوسایتوکاین (TNF-β, TNF-α) را کد می‌کنند. برخی از این محصولات در

www.bbooks.ir

بیماری‌های خاصی نقش دارند. برای مثال، جهش در ژن‌های کد کننده ۲۱- هیدروکسیلاز با هایپرپلازی مادرزادی آدرنال مرتبط می‌باشد.

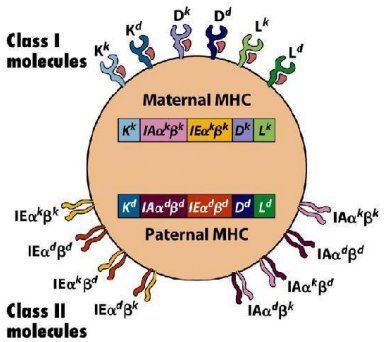
- عرضه سلوی مولکول‌های MHC

عموماً مولکول‌های MHC-I کلاسیک بر روی اکثر سلول‌های هسته‌دار عرضه می‌شوند اما میزان عرضه آنها در انواع سلول‌های مختلف، متفاوت می‌باشد. لنفوسیت‌ها مقادیر بالایی از مولکول‌های کلاس I را عرضه می‌کنند به طوری که تقریباً ۱٪ کل پروتئین‌های غشای این سلول‌ها را تشکیل می‌دهند و یا به تعداد $۵×۱۰^{۵}$ مولکول در هر سلول لنفوسیت عرضه می‌شوند. در مقابل، فیبروبلاست‌ها، سلول‌های عضلانی، هپاتوسیت‌های کبد و سلول‌های عصبی مقادیر بسیار اندکی ازمولکول‌های MHC-I را عرضه می‌کنند. میزان عرضه پایین این مولکول‌ها بر روی سلول‌های کبدی می‌تواند در موفقیت قابل توجه پیوندهای کبد دخیل باشد. به نظر می‌رسد شمار اندکی از سلول‌ها مثل اسپرم و نورون‌ها در مراحل خاصی از تمایز فاقد مولکول‌های MHC-I باشند. هر مولکول اختصاصی MHC می‌تواند به بسیاری از پپتیدهای مختلف متصل شود. از آنجایی که آلل‌های MHC به صورت هم بارز عرضه می‌شوند، افراد هتروزیگوت، بر سطح سلول‌های خود، محصولات کد شده توسط هر دو آلل را بیان می‌کنند. برای مثال، یک موش نسل اول، D،Kو L هریک از والدین را بر سطح سلول‌های هسته‌دار خود عرضه می‌کند (شکل ۱۲-۸).

وضعیت مشاهبی نیز در انسان رخ می‌دهد که افراد تصروزیگوت، آلل‌های B،A و C هر یک از والدین (۶ مولکول MHC-I مختلف) را بر روی غشای تمام سلول‌های هسته‌دار عرضه می‌کنند. به طور طبیعی در سلول‌های سالم، مولکول‌های کلاس I ، پپتیدهای خودی را عرضه می‌کنند. در سلول‌های آلوده به ویروس، پپتیدهای ویروس نیز همانند پپتیدهای خودی عرضه می‌شوند. یک سلول آلوده به ویروس را می‌توان به عنوان سلولی در نظر

www.bbooks.ir

گرفت که مولکول‌های کلاسI مختلفی را بر روی غشای خود دارد و هر یک از آنها، مجموعه متفاوتی از پپتیدهای ویروسی را عرضه می‌کنند.



شکل ۱۲-۸: مثالی از مولکول های MHC مختلف عرضه شده بر روی APCها. در یک موش هتروزیگوت $H\text{-}2^{k/d}$، ژن های MHC پدری و مادری عرضه می شوند.

با توجه به تفاوت‌های آللی موجود در شکاف اتصال به پپتید مولکول‌های MHC-I، مولکول‌های افراد مختلف یک گونه، توانایی اتصال به مجموعه مختلفی از پپتیدهای ویروسی را دارند. برخلاف مولکول‌های MHC-I، مولکول‌های کلاس II از لحاظ ساختمانی تنها توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن (ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک بالغ و سلول‌های B) عرضه می‌شوند. عرضه مولکول‌های کلاس II ممکن است در سلول‌های اپی‌تلیال تیموس و برخی سلول‌های دیگر نیز القا شده و این سلول‌ها تحت شرایط خاص و تحت تاثیر برخی سایتوکاین‌ها به عنوان سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن عمل کنند. از میان انواع مختلف سلول‌ها که مولکول‌های MHC-II را عرضه می‌کنند تفاوت‌های قابل توجهی در عرضه این مولکول‌ها مشاهده شده است. در برخی موراد عرضه مولکول‌های MHC-II، وابسته به مراحله تمایزی سلول می‌باشد.

www.bbooks.ir

- تنظیم بیان MHC

ژن‌های MHC کلاس I و II در انتهای '۵ دارای توالی‌های پروموتر می‌باشند که عوامل نسخه‌برداری ویژه به این توالی‌ها اتصال می‌یابند؛ این عوامل نسخه‌برداری در برخی از ژن‌های MHC شناسایی شده‌اند. عوامل مثبت و منفی بر تنظیم نسخه‌برداری از MHC تأثیر می‌گذارند. برای مثال، یک فعال کننده نسخه‌برداری MHC-II تحت عنوان CIITA و یک عامل نسخه‌برداری دیگر تحت عنوان PFX به ناحیه پروموترژن‌های MHC-II متصل می‌شوند. نقص در این عوامل نسخه‌برداری مموجب شکلی از سندرم لنفوسیت برهنه می‌شود. بیماران مبتلا به این اختلال، فاقد مولکول‌های MHC-II بر روی سلول‌های خود بوده و از یک نقص ایمنی شدید رنج می‌برند. عرضه مولکول‌های MHC توسط سایتوکاین‌ها نیز تنظیم می‌شود. انتیرفرون‌ها (γ, β, α) و عامل نکروز دهندهٔ تومور همگی عرضه مولکول‌های MHC بر روی سلول‌ها را افزایش می‌دهند. به نظر می‌رسد IFN-γ سبب القای بیان CIITA می‌شود و به موجب آن به طور غیر مستقیم عرضه مولکول‌های MHC-II را در انواع سلول‌ها نظیر سلول‌های غیر عرضه‌کننده آنتی‌ژن مثل کراتینوسیت‌ها، سلول‌های اپی‌تلیال روده، اندوتلیوم عروقی، سلول‌های جفت و سلول‌های β پانکراس افزایش می‌دهد. IL-4 عرضه مولکول‌های MHC-II را در سلول‌های B در حال استراحت افزایش داده و IFN-γ موجب کاهش تنظیمی بیان MHC-II در این سلول‌ها می‌شود. کورتیکواستروئیدها و پروستاگلاندین‌ها نیز عرضه مولکول‌های MHC-II را کاهش می‌دهند.

عرضه MHC روی سلول، در برخی عفونت‌های ویروسی مثل Ad12, HBV, CMV (آدنوویروس ۱۲) کاهش می‌یابد. در برخی موارد، کاهش عرضه مولکول‌های MHC-I می‌تواند در نتیجه کاهش میزان اجزای مورد نیاز برای انتقال پپتید یا تجمع MHC-I باشد. برای مثال در عفونت CMV، یک پروتئین ویروس به β2 میکروگلبولین متصل شده و مانع از تجمع مولکول‌های MHC-I و انتقال آنها به غشای پلاسمایی می‌شود. در عفونت با Ad12، نسخه‌برداری از ژن‌های انتقال دهنده TAP-1/TAP-2 به طور قابل توجهی کاشه

www.bbooks.ir

می‌یابد. کاهش عرضه مولکلوهای MHC-I با هر سازوکاری احتمالاً به ویروس‌ها کمک می‌کند تا با کاهش عرضه مجموعه‌های پپتیدویروس –MHC توسط سلول‌های آلوده و در نتیجه کاهش احتمال تخریب توسط CTL، از پاسخ ایمنی فرار کنند.

- تمرکز بالینی

- نقص در انتقال‌دهنده‌های مرتبط با پردازش آنتی‌ژن (TAPs) سبب ابتلا به طیف وسیعی از بیماری‌ها می‌شود سندرم لنفوسیت برهنه (BLS) بیش از ۲۰ سال است که شناخته شده می‌باشد. لنفوسیت بیماران BLS مولکول‌های MHC را به میزان کمتری از حالت طبیعی عرضه می‌کنند و در برخی موارد اصلاً عرضه نمی‌کنند. در BLS نوع I، در مولکول‌های MHC-I نقص وجود دارد و در BLS نوع II عرضه مولکول‌های MHC-II دچار نقص شده است.

زخم نکروتیک در صورت بیمار مبتلا به سندرم نقص TAP

در برخی از موارد BLS نوع II، اختلالات در نتیجه نقص یا سرکوب نسخه‌برداری ژن MHC ایجاد می‌شود اما در بسیاری از موارد، ماهیت نقص شناخته شده نمی‌باشد. به تازگی بررسی گروهی از بیماران BLS نوع I مشخص نمود که این بیمای در نتیجه نقص در ژن‌های TAP1 و RAP2 می‌باشد. پروتئین‌های TAP برای برداشت پپتیدها توسط مولکول‌های MHC-I ضروری می‌باشند و این مرحله به منظور عرضه مولکول‌های MHC-I بر روی سطح سلول حیاتی می‌باشد. اختلالات سلولی دیگر شامل افزایش تعداد سلول‌های

www.bbooks.ir

NK و $\gamma\delta T$ و کاهش میزان سلول‌های $CD8^{+}\alpha\beta T$ می‌باشد. در اوایل زندگی، افراد مبتلا به نقص TAP از عفونت باکتریایی دستگاه تنفس فوقانی رنج می‌برند و در دهه دوم زندگی عفونت‌های مزمن ریوی را تجربه خواهند کرد. تصور می‌شود که یک سندرم آبریزش بینی نوزادی در بیماران جوان/کودکان، مشترک باشد که سبب عفونت باکتریایی ریه در دوران بعدی زندگی می‌شود.

عدم حساسیت این بیماران به عفونت‌های شدید ویروسی، نکته قابل توجه و با ارزشی می‌باشد. برونشکتازی اغلب رخ می‌دهد و عفونت‌های راجعه ممکن است منجر به تخریب ریه‌ها شده و می‌تواندکشنده باشد. بارزترین نشانه این نقص، پیدایش زخم‌های نکروزه پوستی احتمالاً در نتیجه فعال شدن سلول‌های NK و $T\gamma\delta$ می‌باشد. نقص مولکول‌های MHC-I در بیماران BLS وابسته به TAP، افزایش فعالیت سلول‌های NK را توجیه می‌کند. همچنین فعال شدن سلول‌های NK، عدم ابتلا به عفونت‌های شدید ویروسی را نیز توجیه می‌کند. به نظر می‌رسد که آنتی‌بیوتیک و IVUG بهترین درمان برای عفونت‌های ریوی باشند.

در چندین بیمار، جهش در ناحیه پروموتر TAP مشاهده شده است و این امر حاکی از آن است که می‌توان از روش‌های ژن‌درمانی برای این بیماران استفاده کرد. اما توزیع سلولی MHC-I به گونه‌ای گسترش یافته می‌باشد که مشخص نیست برای بهبود تمام علائم بیماری، کدام سلول‌ها بایستی اصلاح شوند.

MHC- و استعداد ابتلا به بیماری

افرادی در جمعیت که از برخی بیماری‌ها رنج می‌برند، برخی آلل‌های HLA را بیشتر بیان می‌کنند. این بیماری‌ها شامل اختلالات خودایمنی، برخی بیماری‌های ویروسی، اختلالات سیستم کمپلمان، برخی اختلالات عصبی و چندین نوع مختلف آلرژی می‌باشند. ارتباط بین

www.bbooks.ir

آلل HLA و ایجاد یک بیماری خاص را می‌توان با تعیین فراوانی آلل‌های HLA تشخیص داد و چنین مقایسه‌ای امکان محاسبه خطر نسبی (RR) را فراهم می‌آورد.

$$RR= \frac{(Ag^{+}/Ag^{-}) \text{ در گروه بیماران}}{(Ag^{+}/Ag^{-}) \text{ در گروه کنترل}}$$

خطر نسبی ۱ بدین معنی است که آلل HLA به میزان یکسال در یک بیمار و یک جمعیت بیان می‌شود و این آلل خطر ابتلا به بیماری را افزایش نمی‌دهد. میزان خطر نسبی بالاتر از ۱ رابطه بین آلل HLA و بیماری را نشان می‌دهد. برای مثال، در افراد با آلل HLA-B27، احتمال ابتلا به اسپوندیلیت آنکیلوزان ۹۰ بار بیشتر می‌باشد (خطر نسبی ۹۰).

سایر بیماری‌های مرتبط با خطر نسبی قابل توجه، شامل HLA-DR2 و میل شدید به خوب (نارکوپسی) با خطر نسبی ۱۳۰، و هموکروماتوز ارثی و هاپلوتایپ A3/B14 با خطر نسبی ۹۰ می‌باشد.

منشأ ژنتیکی چندین بیماری خود ایمن مثل مالتیپل اسکلروزیس (در ارتباط با DR2 با خطر نسبی ۵) و آرتریت روماتوئید (در ارتباط با HLA-DR4 با خطر نسبی۱۰) به طور دقیق مورد مطالعه قرار گرفته است. این بیماری‌ها از طریق سیستم ساده تفکیک مندل آلل‌های MHC به ارث نمی‌رسند. چندین عامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد بیماری به ویژه بیماری‌های خود ایمن نقش دارند و MHC یک نقش مهم را ایفا می‌کند.

چندین فرضیه در مورد نقش MHC در استعداد ابتلا به بیماری پیشنهاد شده است. اختلافات آللی ممکن است موجب اختلاف در پاسخ‌دهی ایمنی شود که ناشی از تفاوت در عرضه آنتی‌ژن پردازش شده به سلول‌های Tمی‌باشد.

همچنین اشکال آللی ژن‌های MHC ممکن است مولکول‌هایی را کد کنند که به عنوان پذیرنده توکسین‌های باکتریایی و ویروسی عمل کنند.

www.bbooks.ir

برخی شواهد حاکی از آن است که کاهش پلی‌مورفیسم MHC در بین گونه‌ها ممکن است موجب استعداد ابتلا به بیماری‌های عفونی شود. مشخص شده است که برخی از گربه‌های وحشی مثل یوزپلنگ‌های فلوریدا، پلی‌مورفیسم MHC بسیار محدودی داشته و به عفونت‌های ویروسی بسیار حساس می‌باشند.

- MHC و پاسخ ایمنی

مطالعات اولیه توسط بناسراف که خوکچه‌های هندی را با آنتی‌ژن‌های مصنوعی ایمن نمود، برای اولین بار توانایی حیوان را در ایجاد پاسخ ایمنی نشان داد؛ به گونه‌ای که این توانایی توسط هاپلوتایپ MHC حیوان تعیین شده و مقدار آن را می‌توان از طریق تولید آنتی‌بادی‌های سرم سنجش نمود.

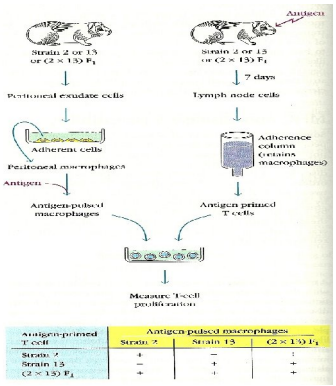
آزمایش‌های بعدی توسط مک‌دویت و سلا بر روی سویه‌های موش جهت تعیین کنترل پاسخ ایمنی ژن‌های MHC-IIصورت پذیرفت. در گزارشات ابتدایی، ژن‌های مسئول این نوع فنوتیپ، Ir یا ژن‌های پاسخ ایمنی نامیده شدند. نام محصولات کلاس II موش (IE, IA) به همین دلیل با I آغاز می‌شود. امروزه می‌دانیم که ارتباط پاسخ‌دهی ایمنی با MHC-II نشان‌دهنده نقش اصلی این مولکول ها در عرضه آنتی‌ژن به سلول‌های T_Hمی‌باشد.

بر طبق مدل گزینش شاخص، توانایی مولکول‌های مختلف MHC-II در اتصال به آنتی‌ژن پردازش شده، متفاوت می‌باشد. بر طبق مدل دیگر، یعنی مدل حفره در گنجینه، سلول‌های Tحامل پذیرنده‌هایی که آنتی‌ژن‌های بیگانه را شناسایی می‌کنند، طی گزینش منفی در تیموس حذف می‌شوند (به دلیل شباهت زیاد آنها با آنتی‌ژن‌های خودی). فقدان پذیرنده‌های سلول T ویژه برخی مجموعه‌های پپتید -MHCممکن است موجب عدم پاسخ‌دهی ایمنی شده و مسئول ارتباط موجود بین هاپلوتایپ MHC و پاسخ دهی ایمنی به آنتی‌ژن‌های خارجی باشد.

www.bbooks.ir

- سلول‌های Tمحدود به MHC خودی می‌باشند

در سال ۱۹۷۰ به منظور بررسی بیشتر ارتباط بین MHC و پاسخ ایمنی، آزمایشاتی صورت گرفت. این بررسی‌ها نشان داد که هر دو سلول‌های $CD4^{+}I$, $CD8^{+}$ تنها زمانی قادر به شناسایی آنتی‌ژن می‌باشند که توسط مولکول MHC خودی عرضه شوند؛ با این روند، محدودیت به MHC خودی اتلاق می‌شود. رزنتال و شواح نشان دادند که تکثیر سلول‌های T_H ویژه آنتی‌ژن، تنها در پاسخ به آنتی‌ژن عرضه شده توسط ماکروفاژهای با هاپلوتایپ MHC مشابه با سلول‌های T صورت می‌گیرد. در سیستم آزمایشگاهی، آنها ابتدا ماکروفاژهای خوکچه هندی سویه ۲ با سلول‌های T همان سویه ، یک سویه متفاوت (سویه ۱۳) و زاده‌های نسل اول(۲×۱۳) مخلوط شدند و میزان تکثیر سلول‌های T در پاسخ به ماکروفاژهای عرضه کننده آنتی‌ژن را سنجیدند. نتایج این آزمایش در شکل ۱۴-۸ بیان شده‌است.



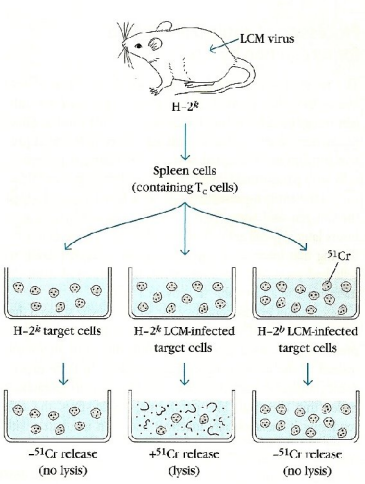
شکل ۱۴-۸: اثبات آزمایشگاهی محدودیت مولکول های T_H به MHC خودی. سلول های اگزودای صفاقی سویه های ۲، ۱۳ و ۲ ۱۳ (F1) خوکچه های هندی در پتری دیش پلاستیکی انکوبه شده و سپس با ماکروفاژهای صفاقی غنی شده با آنتی ژن مجاور شدند. سپس این ماکروفاژها در آزمایشگاه با سلول های T سویه ۲ یا F1 انکوبه شد و میزان تکثیر سلولی سنجیده شد. نتایج نشان می دهند که سلول های T_H تنها در پاسخ به آنتی ژن عرضه شده با مبکروفاژهایی تکثیر می یابند که آلل های MHC مشترکی دارند.

www.bbooks.ir

این نتایج نشان می‌دهد که ماکروفاژهای عرضه کننده آنتی‌ژن سویه ۲، سلول‌های T سویه ۲ و نسل اول را فعال می‌کنند اما سلول‌های T سویه ۱۳ را فعال نمی‌کنند.

همانند آزمون بالا، سویه‌های موش کانژن و کانژن نوترکیب که تنها در نواحی ویژه مجموعه H-2 با یکدیگر اختلاف داشتند، به عنوان منبع ماکروفاژها و سلول‌های T، مورد استفاده قرار گرفتند و این آزمایش‌ها اثبات نمودند که سلول‌های $CD4^{+}T_{H}$ تنها در حضور ماکروفاژهای عرضه کننده آنتی‌ژن که دارای آلل‌های MHC-II یکسان می‌باشند. فعال شده و تکثیر می‌یابند. بنابراین شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول $CD4^{+}T_{H}$ محدود به MHC-II خودی می‌باشد. در سال ۱۹۷۴، زینکرناگل و دوهرتی محدودیت سلول‌های $CD8^{+}T$ به MHC خودی را اثبات کردند. در آزمایشات آنها، موش‌ها با ویروس کوریومننژیت لنفوسیتی (LCM) ایمن شدند و چند روز بعد، سلول‌های طحال این حیوانات به حاوی سلول‌های T ویژه ویروس بود جدا شد و با سلول‌های هدف با همان هاپلوتایپ یا هاپلوتایپ متفاوت انکوبه شدند (شکل ۱۵-۸). آنها دریافتند که سلول‌های Tc تنها سلول‌های هدف هم نژادی که با ویروس آلوده شده‌اند را از بین می‌برند. آزمایشات بعدی آنها نشان داد که سلول‌های Tc و سلول‌های هدف نیازمند مولکول‌های کلاس I می‌باشند که توسط نواحی D یا MHC K کد می‌شوند

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۸: آزمایش کلاسیکی از زینکرناگال و دوهرتی در اثبات این که شناسایی آنتی ژن در سلول های T به صورت محدود به MHC صورت می گیرد.

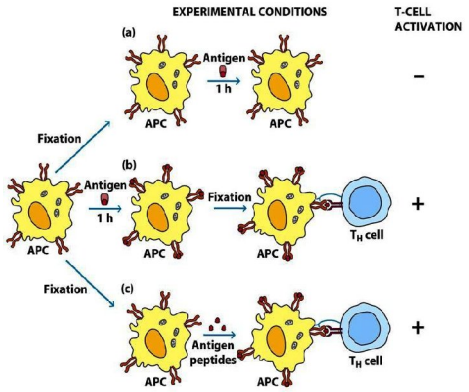
- نقش سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن

اوایل سال ۱۹۵۹ ایمونولوژیست‌ها با بافته‌هایی مبنی بر این امر مواجه شدند که سلول‌های B,T با مکانیسم‌های متفاوت، آنتی‌ژن را شناسایی می‌کنند. عقیده‌ای که در آن زمان وجود داشت و تا سال ۱۹۸۰ نیز ادامه یافت این بود که سلول‌های سیستم ایمنی پروتئین‌های دست نخورده را با همان آرایش فضایی طبیعی شناسایی می‌کنند. با این وجود، آزمایش‌های بنسراف و ژل نشان داد، در صورتی که هر دو پاسخ اولیه سلولی و آنتی‌بادی به وسیله پروتئین با آرایش فضای طبیعی ایجاد می‌شود اما پاسخ ثانویه آنتی‌بادی (بواسطه سلول‌های B) تنها به وسیله پروتئین طبیعی می‌تواند تحریک شود، در حالی که پاسخ ثانویه سلولی توسط هر دو پروتئین دناتوره و پروتئین طبیعی تحریک می‌شود.

www.bbooks.ir

- پردازش آنتی‌ژن جهت شناسایی توسط سلول‌های T ضروری است

نتایج به دست آمده توسط زیگلر و اونانیو که با عقیده رایج آن زمان تناقض داشت این بود که اصول شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول B و سلول Tمشابه نمی‌باشد. این بررسی نشان داد که فعال‌سازی سلول TH توسط آنتی‌ژن‌های پروتئینی باکتریایی از طریق تیمار سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن با پارافرمالدئید متوقف می‌شود. با این وجود در صورتی که امکان بلغ آنتی‌ژن برای این سلول‌های عرضه کننده فراهم شود و ۱ تا ۳ ساعت بعد با پارافرمالدئید ثابت شوند (شکل ۱۶-۸)، سلول‌های عرضه کنند، آنتی‌ژن را پردازش کرده و آن را به شکلی در سطح غشای خود عرضه می‌کنند که سلول‌های T فعال می‌شوند.



شکل ۱۶-۸: اثبات آزمایشگاهی این که پردازش آنتی ژن جهت جهت فعال شدن سلول T_H ضروری می باشد.

آزمایش های بعدی توسط شیمونکوتیس نشان داد، در صورتی که سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن به جای یک آنتی‌ژن طبیعی با یک پپتید آنتی‌ژنی تجویز شده مواجه شوند، فعال‌سازی سلول T صورت می‌گیرد(شکل ۱۶-۸). در این آزمایشات سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن با گلوتارآلدئید تیمار شدند و سپس به همراه اوالبومین طبیعی یا با اوالبومین هضم شده انکوبه شدند؛ اوالبومین هضم شده قادر بود با APCهای ثابت شده، واکنش داده

www.bbooks.ir

وسبب فعال‌سازی سلول‌های T_H اختصاصی اوالبومین شود، در حالی که اوالبومین طبیعی توانایی انجام چنین واکنشی را نداشت. این نتایج حاکی از آن است که آنتی‌ژن پروتئینی جهت شناسایی توسط سلول‌های T_H بایستی به پپتیدهای کوچکتری پردازش شوند.

- اکثر سلول ها می‌توانند آنتی‌ژن را به همراه MHC-I عرضه کنند و عرضه آنتی‌ژن همراه MHC-II منحصر به APCها می‌باشد سلول‌هایی که پپتیدها را به همراه مولکول های MHC-I به سلول های $CD8^+T$ عرضه می‌کنند، سلول‌های هدف تلقی می‌شوند و سلول‌هایی که پپتیدها را به همراه مولکول‌های MHC-II به سلول‌های $CD4^+T_H$ عرضه می‌کنند، سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن (APCs) نامیده می‌شوند. باید به این نکته توجه داشت که در برخی موارد، APCها نیز آنتی‌ژن را همراه مولکول‌های MHC-I عرضه می‌کنند. خصوصیت متمایز APCها، توانایی آنها در عرضه مولکول‌های MHC-II و فراهم‌آوردن یک پیام کمک تحریکی می‌باشد. سه نوع از سلول‌ها (ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک وسلول‌های B) به عنوان APCهای حرفه‌ای عمل می‌کنند. سازوکار این سلول‌ها در برداشت آنتی‌ژن، عرضه ساختاری مولکول‌های MHC-II و فعالیت کمک تحریکی، با یکدیگر متفاوت می‌باشد:

- سلول‌های دندریتیک، کارآمدترین APCها می‌باشند. از آنجایی که این سلول‌ها از لحاظ ساختاری مقادیر بالایی از مولکول‌های MHC-II را عرضه کرده و فعالیت کمک تحریکی دارند، می‌توانند سلول‌های T_H دست‌نخورده را فعال کنند.
- ماکروفاژها بیش از عرضه مولکول‌های MHC-II و مولکول‌های کمک تحریکی غشایی مانند B7، بواسطه بیگانه‌خواری آنتی‌ژن‌های ذره‌ای فعال می‌شوند.
- سلول‌های B به طور ساختاری مولکول‌های MHC-II را عرضه می‌کنند، اما بایستی از عرضه مولکول‌های کمک تحریکی، فعال شوند.

چندین نوع سلول دیگر نیز به عنوان سلول‌های غیر حرفه‌ای عرضه کننده آنتی‌ژن دسته‌بندی شده و می‌توانند مولکول‌های کمک تحریکی یا MHC-II را عرضه کنند (جدول

www.bbooks.ir

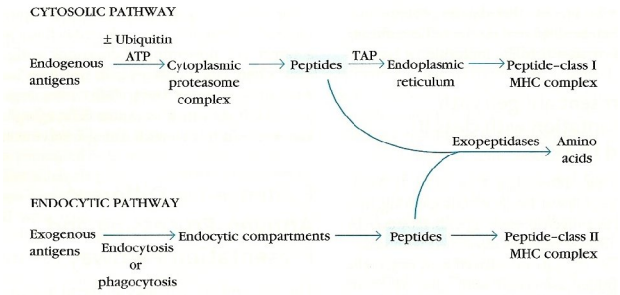
۳-۸). بسیاری از این سلول‌ها در پاسخ‌های التهابی، تنها به مدت کوتاهی در عرضه آنتی‌ژن فعالیت می‌کنند.

TABLE 8-3 Antigen-presenting cells

Professional antigen-presenting cells	Nonprofessional antigen-presenting cells	
Dendritic cells (several types)	Fibroblasts (skin)	Thymic epithelial cells
Macrophages	Glial cells (brain)	Thyroid epithelial cells
B cells	Pancreatic beta cells	Vascular endothelial cells

- شواهدی مبنی بر مسیرهای پردازش و عرضه آنتی‌ژن وجود دارد

سیستم ایمنی جهت از بین بردن آنتی‌ژن‌های داخل سلولی و خارج سلولی از مسیرهای مختلفی بهره می‌گیرد. به عنوان یک قاعده کلی آنتی‌ژن‌های داخلی در مسیر سیتوز ولی پردازش شده و به همراه مولکول‌های MHC-Iبر روی غشا عرضه می‌شوند و آنتی‌ژن‌های خارجی در مسیر اندوسیتوزی پردازش شده و همراه مولکول‌های MHC-II بر روی غشا عرضه می‌شوند(تصویر ۱۷-۸).



شکل ۱۷-۸: مروری بر مسیرهای سیتوزولی و اندوسیتوزی پردازش آنتی ژن. مجموعه پروتئازوم شامل چندین آنزیم می باشد که اتصالات پپتیدی را شکسته و پروتئین ها را به پپتیدها تبدیل می نمایند.

آزمایشات صورت گرفته توسط موریسون و براساید به خوبی بیانگر این امر می‌باشد که پپتیدهای آنتی‌ژن عرضه شده توسط مولکول‌های کلاس I و II از مسیرهای پردازش مختلفی

www.bbooks.ir

مشتق می‌شوند. آنها با استفاده از کلون سلول T که یک آنتی‌ژن ویروس آنفولانزا را به همراه یک مولکول MHC-I و یک کلون سلول T دیگر که همان آنتی‌ژن ویروسی را به همراه مولکول MHC-II شناسایی می‌کند، نتیجه گرفتند که هر دو مسیر از اصول زیر پیروی می‌کنند:

- عرضه کلاس I، نیازمند سنتزپروتئین ویروس می‌باشد. با توجه به آلوده سازی سلول‌های هدف با ویروس زنده ومهار عرضه کلاس I با استفاده از یک مهار کننده سنتزپروتئین (Emetine) این نیاز مشخص شد.
- عرضه کلاس II ، با ویروس‌های فاقد قدرت تکثیر نیز انجام می‌گیرد؛ و مهار سنتز پروتئین روی آن تأثیری ندارد و نشان‌دهنده این است که سنتز پروتئین جدید از شرایط ضروری جهت عرضه کلاس II نمی‌باشد.
- عرضه کلاس II (روند کلاس I) باتیمار سلول‌ها با یک عامل مهار کننده مسیر پردازش اندوستیوزی سلول (کلروکین) مهار می‌شود.

- آنتی‌ژن‌های داخل (اندوژن): مسیر سیتوزولی

در سلول‌های یوکاریوتی، میزان پروتئین به دقت تنظیم می‌شود و هر پروتئین به طور پیوسته تحت تولید از نو (denovo) قرار می‌گیرد و با سرعتی تجزیه می‌شود که اصطلاحاً به آن نیمه عمر می‌گویند. برخی پروتئین‌ها مثل عوامل نسخه‌برداری، سایکلین‌ها و آنزیم‌های کلیدی متابولیسم نیمه عمر بسیار کوتاهی دارند. همچنین پروتئین‌های دناتور شده و آنهایی که به طور نامناسب چین می‌خورند و یا پروتئین‌های غیر طبیعی دیگر، سریع تجزیه می‌شوند. محصولات معیوب ریبوزومی پلی‌پپتیدهایی هستند که ساختمان ناقصی داشته و بخش اعظم محصولاتی راتشکیل می‌دهند که سریعاً تجزیه می‌شوند.

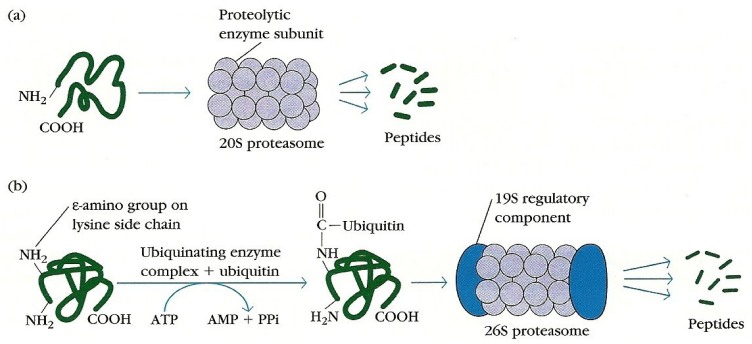
نیمه عمر متوسط پروتئین‌های سلولی در حدود ۲ روز می‌باشد اما بسیاری از آنها در مدت ۱۰ دقیقه تجزیه می‌شوند. بیشتر آنها به اسیدهای آمینه تشکیل دهنده خود تجزیه

www.bbooks.ir

می‌شوند، اما برخی دیگر به صورت پپتید در داخل سیتوزول باقی می‌مانند و سیستم ایمنی آنها را شناسایی کرده و برخی را همراه با مولکول‌های MHC-I بر روی سطح سلول عرضه می‌کند. مسیری که در آن پپتیدهای اندوژن به منظور عرضه توسط مولکولهای MHC-I تجزیه می‌شوند، از ساندکارهای طبیعی دخیل در مسیرهای de novo پروتئین‌های داخلی سلولی بهره می‌گیرند.

- پپتیدها از طریق مجموعه‌های پروتئاز تحت عنوان پروتئازوم تولید می شوند

پروتئین‌های داخل سلولی توسط سیستم‌های تجزیه پروتئین‌های ستیوزولی موجود در تمام سلول‌ها یا همان پروتئازوم‌ها تجزیه می‌شوند(شکل ۱۸-۸).



شکل ۱۸-۸: سیستم پروتئولیتیک سیتوزولی جهت تجزیه پروتئین های داخل سلولی.

یک پروتئازوم بزرگ (۲۰s) از ۱۴ زیر واحد تشکیل شده که در ساختار شبکه مانندی از حلقه‌های متقارن آرایش یافته‌اند. برخی از این زیر واحدها فعالیت پروتئازی دارند. ورود پروتئین به این پروتئازوم از طریق کانال‌های باریک (موجود در هر دو انتها) صورت می‌گیرد. بسیاری از پروتئین‌هایی که مورد هدف پروتئولیز قرار می‌گیرند، یک پروتئین کوچک با نام یوبی‌کتیین دارند که به آنها متصل شده است(شکل ۱۸-۸). کونژوگه‌های

www.bbooks.ir

پروتئین- یوبی‌کیتین می‌توانند از طریق یک مجموعه پروتئاز چند عملکردی متشکل از یک پروتئازوم ۲۰s که یک جزء تنظیمی ۱۹s به آن اضافه می‌شود، تجزیه شوند.

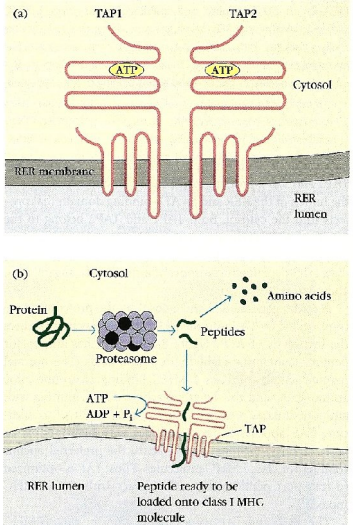
پروتئازوم، پیوندهای پپتیدی را در یک روند وابسته به ATP می‌شکند (۱۸-۸). تصور می‌شود که تجزیه مجموعه‌های پروتئین – یوبی‌کتیین درحفره مرکزی پروتئازوم صورت می‌گیرد. شواهد تجربی نشان می‌دهد که سیستم ایمنی، این مسیر عمومی تجزیه پروتئین را به کار می‌گیرد تا پپتیدهای کوچکی را برای عرضه توسط مولکول‌های MHC-I تولید کند. علاوه بر پروتئازوم‌های ۲۰s استاندارد موجود در تمام سلول‌ها یک پروتئازوم متفاوت دیگر نیز در سلول‌هایی که فعالیت ایمنی دارند وجود دارد. این پروتئازوم ایمنی که تولید آن توسط IFN-γ یا TNF-α تحریک می‌شود، در سلول‌های آلوده به ویروس یافت می‌شود و نشان می‌دهد که آنها در پردازش پروتئین‌های ویروس جهت عرضه توسط مولکول‌های MHC-I نقش مهمی بر عهده دارند.

- پپتیدها از ستیوزول به شبکه اندروپلاسمی خشن منتقل می‌شوند

درک و شناخت نقش انتقال پپتیدها و عرضه آنها به مولکول‌های MHC در مسیر پردازش ستیوزولی، از بررسی رده‌های سلولی بدست آمده است که در عرضه پپتید توسط مولکول‌های MHC-I نقص دارند یکی از ین رده‌های سلولی، جهش یافته‌ای با نام RMA-S می‌باشد که تقریباً ۵٪ میزان طبیعی، مولکول‌های MHC-I را بر روی غشای خود عرضه می‌کنند. اگر چه سلول‌های RMA-S زنجیره‌های α و β2 میکروگلبولین کلاس I را به میزان طبیعی بیان می‌کنند ولی با این حال، مجموعه‌های MHC-I اندکی بر روی غشای آنها بارز می شوند. مدارکی دال بر جهش در رده سلولی توسط تاون‌سند وهمکارانش کشف شد. آنها با خوراندن پپتید به این سلول‌ها، میزان عرضه مولکول‌های MHC-I غشایی آنها را به حالت طبیعی باز گرداندند. این محققین پیشنهاد کردند که این پپتیدها جهت استحکام بر همکنش بین زنجیره α وβ2 میکروگلبولین ضروری می‌باشند. توانایی عرضه مجدد مولکول‌های

www.bbooks.ir

MHC-I بر روی غشا حاکی از آن است که سلول‌های رده RMA-S ممکن است در انتقال پپتید، نقص داشته باشند. آزمایشات بعدی نشان دادند که نقص رده سلولی RMA-S در پروتئینی است که پپتیدها را از سیتوپلاسم به RER منتقل می‌کند. زمانی که سلول‌های RMA-S با یک ژن کارآمد کد کننده این پروتئین ناقل آلوده شدند، این سلول‌ها شروع به عرضه مولکول‌های MHC-I بر روی غشای خود کردند. این پروتئین ناقل، TAP نامیده می‌شود. TAP یک هترودایمر می‌باشد که چندین بار عرض غشا را طی کرده و از دو پروتئین TAP1 و TAP2تشکیل شده است (شکل ۱۹-۸).



شکل ۱۹-۸: پروتئین ناقل در پردازش آنتی ژن (TAP). (a) دیاگرام شماتیکی از یک هترودایمر TAP در غشای ER (b) اتصال LMP2، LMP7 و LMP10 با یک پروتئازوم موجب تغییر ویژگی کاتالیتیکی آن می شود.

هریک از پروتئین‌های TAP1 و TAP2 علاوه بر چندین بخش غشاگذر، دارای یک دومن سطح داخلی RER و یک دومن متصل شونده به ATP می‌باشند که در ستیوزول واقع شده است. این پروتئین‌ها، انتقال وابسته به ATP اسید آمینه، قندها، یون‌ها و پپتیدها را میانجی‌گری می‌کنند.

www.bbooks.ir

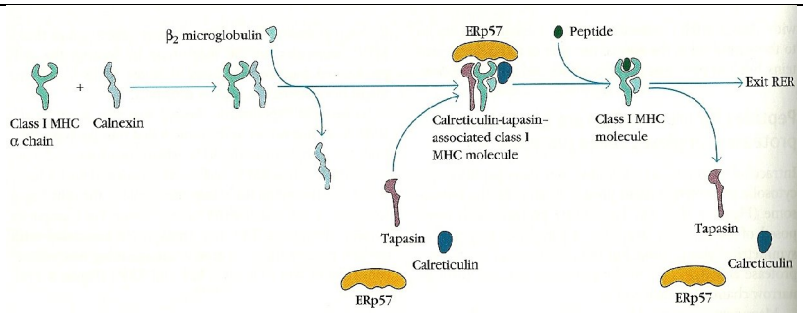
پپتیدهای تولید شده در ستیوزول، به کمک ATP و با روندی که نیازمند هیدرولیز ATP می‌باشد به RER منتقل می‌شوند (شکل ۱۹-۸). TAP برای پپتیدهای حاوی ۱۶-۸ اسید آمینه میل پیوندی دارد. طول پپتید ایده‌آل برای اتصال به MHC-I حدود ۹ اسید آمینه می‌باشد و پپتیدی با این طول، از طریق پیرایش آمینوپپتدازهای موجود در ER (مثل ERAP) حاصل می‌شود. علاوه بر این، TAP ، پپتیدهایی را انتخاب می‌کند که بنیان‌های لنگری مناسب‌تری برای مولکول‌های MHC-I داشته باشند.

ژن‌های TAP1 و TAP2 در ناحیه MHC-II و در مجاورت ژن‌هایLMP2 و LMP7 قرار دارند (شکل ۱۱-۸) و اشکال آللی مختلفی از این ژن‌ها، دریک جمعیت وجوددارد. نقص در TAPمنجر به سندرمی می‌شود که دارای هر دو جنبه نقص ایمنی و خود ایمنی می‌باشد.

- تجمع پپتیدها به همراه MHC-I با کمک مولکول‌های چاپرون انجام می‌پذیرد

همانند سایر پروتئین‌ها، اجزای β2 میکروگلبولین وزنجیره α مولکول MHC-I بر روی پلی‌زوم‌های موجود در سرتاسر شبکه اندوپلاسمی خشن سنتز می‌شوند. تجمع این اجزا برای تشکیل یک مجموعه مولکولی پایدار MHC-I که می‌تواند RER را ترک نماید، نیازمندوجود یک پپتید در شیار مولکول کلاس I می‌باشد. روند تجمع، مستلزم چندین مرحله بوده و شامل حضور و همکاری مولکول‌های چاپرون می‌باشد که چین‌خوردگی پلی‌پپتیدها را تسهیل می‌کنند. اولین مولکول چاپرون دخیل در تجمع MHC-I ، کالنکسین می‌باشد که یک پروتئین مستقر در غشای شبکه اندوپلاسمی می‌باشد. کالنکسین، به زنجیره α آزاد کلاس I متصل شده و سبب چین‌خوردگی آن می‌شود. زمانی که β2 میکروگلبولین به زنجیره α متصل می شود. کالنکسین رها شده و MHC-I به چاپرون های کالرتیکولین وتاپاسین متصل می‌شود. تاپاسین، ناقل TAP را به مجاورتMHC-Iآوره واین امکان را فراهم می‌آورد تا یک پپتید آنتی‌ژنی به آن متصل شود (شکل۲۰-۸).

www.bbooks.ir



شکل ۲۰-۸: تجمع و پایداری مولکول های MHC-I. در غشای RER یک زنجیره α که به تازگی سنتز شده است با کالنکسین همراه می شود تا این که β_2-میکروگلبولین به زنجیره α متصل شود. اتصال بعدی به β_2-میکروگلبولین موجب رها شدن کالنکسین و اتصال کالرتیکولین و تاپاسین می شود که به همراه ناقل TAP می باشد. این اتصال موجب تقویت اتصال پپتید آنتی ژن می شود که موجب پایداری مجموعه پپتید- MHC-I شده و رها شدن آن را از RER ممکن می سازد.

تاپاسین ممکن است به صورت اشکال چند زیر واحدی وجود داشته باشد اما در اینجا برای سهولت، به صورت تک زیرواحدی (منومر) نشان داده شده است. یک پروتئین دیگر با فعالیت آنزیمی (Erp57) با یک پیوند دی‌سولفید به تا پاسین و یک پیوند غیر کووالان به کالرتیکولین متصل شده و سبب استحکام بر همکنش میان آنها می‌گردد و این امکان را فراهم می‌آورد تا زنجیره‌های α و β2 میکروگلبولین پس از دریافت پپتید از چاپرون جدا شوند. پروتئین TAP(شکل ۱۹-۸) احتمال برداشت پپتید توسط مولکول کلاس I را قبل از مواجهه پپتید با محیط لومن RER افزایش می‌دهد.

اگزوپروتئازهای ER، بر روی پپتیدهایی که به مولکول‌های MHC-I متصل نشده‌اند، عمل می‌کنند. یک آمینوپپتداز ER با نام ERAP1، زیر واحدهایی را از انتهای آمین پپتیدها بر می‌دارد تا اندازه ایده‌آل برای پپتید ایجاد گردد. ERAP1 میل پیوندی کمی برای پپتیدهایی با طول کمتر از ۸ اسید آمینه دارد. یک آمینوپپتیداز دیگر ER (ERAP2) می‌تواند پپتیدها را به اندازه‌های مختلف تجربه کرده و بنابراین، آنهایی که برای اتصال به مولکول MHC-I بسیار کوتاه می‌باشند را حذف می‌کند.

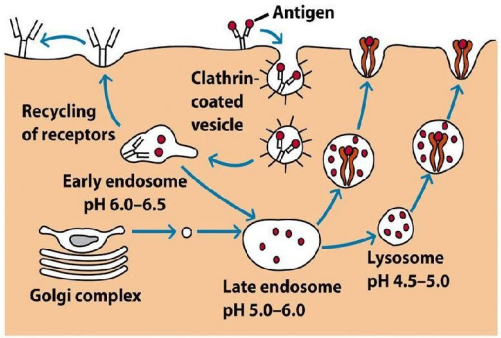
www.bbooks.ir

- آنتی‌ژن‌های خارجی (اگزوستیوزی): مسیر اندوستیوزی

سلول‌های عرضه کنند و آنتی‌ژن می‌توانند آنتی‌ژن را با روند بیگانه‌خواری، اندوستیوز و یا هردو، برداشت کنند. ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک، با هر دو روند می‌توانند آنتی‌ژن را به درون خود بکشند، در حالی که سایر APCها فاگوسیت نبوده یا فاگوسیت‌های ضعیفی می‌باشند و از این رو آنتی‌ژن‌های خارجی را تنها با اندوستیوز برداشت می‌کنند.

- پپتیدهای از مولکول هایی که وارد وزیکول های اندوستیوزی شده‌اند، بوجودمی‌آیند

آنتی‌ژن به محض ورود به سلول در مسیر پردازش اندوستیوزی به پپتیدها تجزیه می‌شود. به نظر می‌رسد مسیر اندوستیوزی مستلزم حضور سه ساختار بسیار اسیدی می‌باشد: اندوزوم‌های اولیه (PH=۶-۶/۵)، اندوزوم‌های ثانویه (PH=۵-۶) و لیزوزوم‌ها (PH=۵/۴-۵)(شکل ۲۱-۸).



شکل ۲۱-۸: تولید پپتیدهای آنتی ژنی در مسیر پردازش سیتوزولی.

لیزوزوم حاوی مجموعه بی‌نظیری از حدود ۴۰ هیدرولاز اسیدی از جمله پروتئازها، نوکلئازها، گلیکوزیدازها، لیپازها، فسفولیپازها و فسفاتازها می‌باشد. در ساختارهای مسیر اندوستیوزی، آنتی‌ژن به الیگوپپتیدهای ۱۳تا ۱۸ زیر واحدهای تجزیه می‌شود که به

www.bbooks.ir

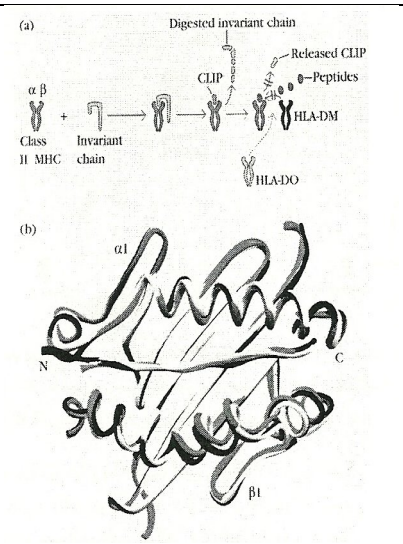
مولکول‌های MHC-II متصل شده و بنـابراین از پروتئـولیز بیشـتر محافظـت مـی‌شـوند. از آنجایی که آنزیم‌های هیدرولیتیک به طور بهینه تحت شرایط اسیدی (PH پـایین) فعالیـت می‌کنند، می‌توان با مواد شیمیایی که PHاین ساختارها را افزایش می‌دهنـد(کلـروکین‌هـا) و مهارکننده‌های پروتئاز (leupeptin)، پردازش آنتی‌ژن را مهار کرد.

- زنجیره نامتغیر، انتقال مولکول های MHC-II را به وزیکول های اندوستیوزی رهبری می‌کند

از آنجایی که APCها هر دو مولکول‌های MHC کلاسI و II را عرضه مـی‌کننـد، برخـی مکانیسم‌ها بایستی وجود داشته باشد تا از اتصال مولکول های MHC-II به مجموعه مشابهی از پپتیدهای آنتی‌ژنی جلوگیری کند. زمـانی کـه مولکـول‌هـای MHC-II در RER سـاخته می‌شوند، سه جفت از زنجیره‌های $\alpha\beta$ کلاس II با یک ترایمر پروتئینی با نام زنجیره نامتغیر (Ii, CD74) همراه می‌شوند. این پروتئین با شیار مولکـول‌هـای MHC-II واکـنش داده و از اتصال هر گونه پروتئین اندوژن به این شیار ممانعت به عمل می‌آورد وایـن درحـالی اسـت که مولکول کلاس II درون RER می‌باشد (شکل ۲۲-۸).

نقش زنجیره نامتغیر در مسیر انتقال مولکول‌های کلاس II، با آلوده‌سازی سلول‌های فاقـد ژن کد کننده مولکول‌های MHC-II و زنجیره نامتغیر اثبات شد. سلول‌های آلـوده شـده بـا ژن‌های MHC-II نشاندار، آشکار ساخت کـه مولکـول هـای کـلاس II در گلـژی تجمـع می‌یابند. با این وجود در سلول‌های آلوده شده بـا هـر دو ژن MHC-II و زنجیـره نـامتغیر، مشاهده شد که مولکولهیا کلاس II در وزیکول‌های سیتوپلاسمی مسیر اندوسـتیوزی تجمـع می‌یابند. زنجیره نامتغیر حاوی پیام‌های تجمعی در دم سیتوپلاسمی خود می‌باشد که انتقـال مجموعه MHC-II را از سطح ترانس شـبکه گلـژی بـه سـاختارهای اندوسـتیوزی رهبـری می‌کند.

www.bbooks.ir



شکل ۲۲-۸: تجمع مولکول های MHC-II.

- پپتیدها با مبادله CLIP با مولکول‌های MHC-II تجمع می‌یابند

آزمایش‌های اخیر نشان می‌دهند که اکثر مجموعه‌های زنجیره نامتغیر و MHC-II از RER به شبکه گلژی وسطح ترانس آن منتقل شده و سپس از طریق مسیر اندوستیوزی به اندوزدم‌های اولیه و سپس ثانویه و در نهایت به لیزوزوم‌ها منتقل می‌شوند. با افزایش فعالیت پروتئولیتیکی در هر یک از ساختارها، این زنجیره نامتغیر به تدریج تجزیه می‌شود. با این وجود، یک قطعه کوچک از زنجیره نامتغیر با نام CLIP، حتی پس از این که زنجیره نامتغیر در ساخار اندوزومی تجزیه شد، متصل به آن باقی می‌ماند (شکل ۲۲-۸).

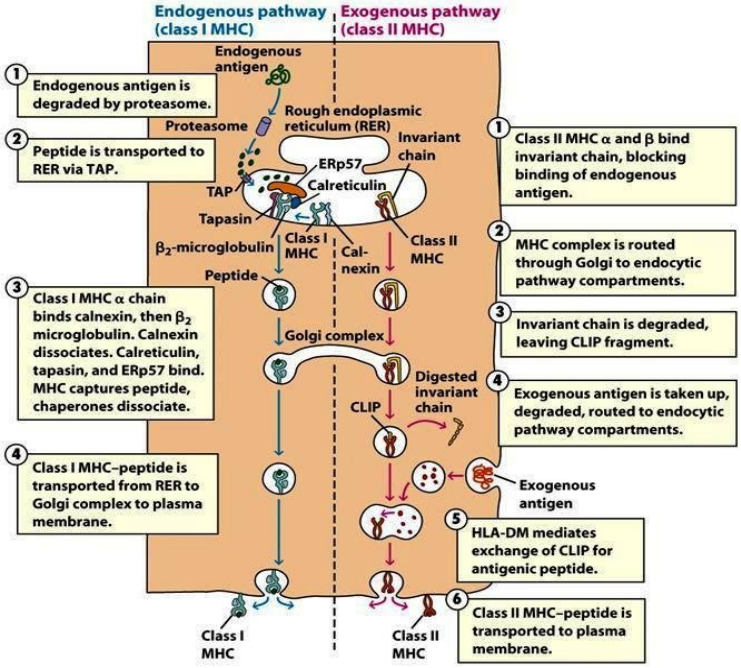
یک مولکول غیر کلاسیک MHC-II با نام HLA-DM جهت مبادله CLIPبا پپتیدهای آنتی‌ژنی ضروی می‌باشد(شکل ۲۲-۸). HLA-DM نیز مانند سایر مولکول‌های MHC-II هترودایمری متشکل از زنجیره‌های α و β می‌باشد. با این وجود، برخلاف سایر مولکول های MHC-II ، HLA-DM پلی‌مورف نبوده و بر روی غشای سلولی عرضه نمی‌شود. ژن‌های

www.bbooks.ir

DMα و DMβ در مجاورت ژن‌های TAP و LMP در مجموعه MHC انسان جای گرفته‌اند و DM در سلول‌هایی بیان می‌شود که مولکول‌های کلاسیک رده II را عرضه می‌کنند. واکنش بین HLA-DM و مجموعه CLIP و کلاس II، مبادله CLIP با پپتیدها را تسهیل می‌کند و این واکنش درحضور HLA-DO مهار می‌شود، به طوری که HLA-DO با اتصال به HLA-DM سبب کاهش کارآیی واکنش مبادله می‌گردد. HLA-DO همانند HLA-DM یک مولکول کلاس II غیر کلاسیک و غیر پلی‌مورف می باشد که در MHC سایر گونه‌ها نیز یافت می‌شود. تفاوت HLA-DO با HLA-DM در این است که تنها توسط سلول‌های B و تیموس بیان می‌شود و علیرغم سایر مولکول‌های کلاس II بیان آن توسط IFN-γ تحریک نمی‌شود و ژن‌های کد کننده زنجیره‌های α و HLA-DO β در مجاورت ژن‌های MHC نمی‌باشد (شکل ۱۱-۸).

شکل ۲۳-۸ رئوس مطالب مربوط به مسیر اندوژن (سمت چپ) را نشان می‌دهد و آن را با یک مسیر اگزوژن (سمت راست) مقایسه می‌کند. این که یک پپتید آنتی‌ژنی به مولکول کلاس I یا کلاس II اتصال یابد، به واسطه شیوه ورود به سلول و نیز جایگاه پردازش آنتی‌ژن بستگی دارد. با این حال، این شرایط مطلق نبوده و در مورد برخی APCها، آنتی‌ژن‌های اگزوژن بواسطه عرضه متقاطع، ممکن است همراه مولکول‌های کلاس I عرضه شوند.

www.bbooks.ir



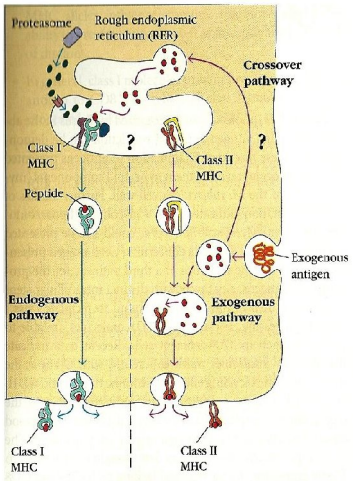
شکل ۲۳-۸: در مسیرهای مختلف پردازش آنتی ژن، از آنتی ژن های اندوژن و اگزوژن استفاده می شود. شیوه ورود آنتی ژن به سلول ها و جایگاه پردازش آنتی ژن تعیین می کند که چرا پپتیدهای آنتی ژنی در RER با MHC-I و در اجزای اندوسیتوزی با MHC-II همراه می شوند.

- عرضه متقاطع آنتی‌ژن‌های خارجی

در برخی موارد، APCها می‌توانند آنتی‌ژن‌های اگزوژن را به همراه مولکول‌های MHC-I به سلول‌های Tc عرضه کنند. اولین بار توسط بوان و اخیراً توسط کرس‌ول بیان شده است که پدیده عرضه متقاطع نیازمند این می‌باشد که آنتی‌ژن‌های بلیعده شده به جای این که به طور طبیعی از مسیراگزوژن و توسط MHC-II عرضه شوند، از مسیر اندوژن وتوسط MHC-I بارگیری شوند. سپس این پپتیدها به همراه مولکول‌های MHC-I عرضه می‌شوند (عرضه متقاطع). مکانیسم‌های پیشنهادی جهت عرضه متقاطع این است که پپتیدهایی که

www.bbooks.ir

قبلاً بر روی مولکول‌های کلاس I در ER بارگیری شده اند، با پپتیدهای اگزوژن مبادله می شوند. همچنین ممکن است پپتیدهای اگزوژن به طریقی به ER دسترسی یابند و در کل فرآیند پردازش سیتوزولی وارد شوند. یک مسیر فرضی برای عرضه متقاطع در شکل ۲۴-۸ نشان داده شده است.



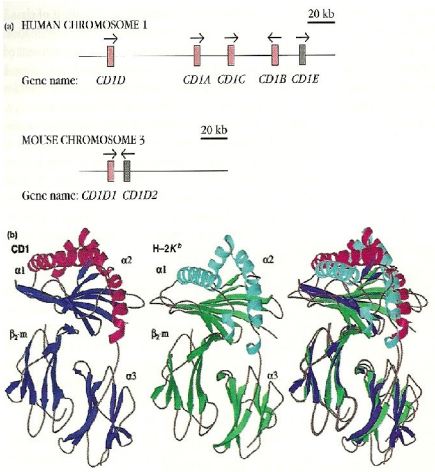
شکل ۲۴-۸: مکانیسم فرضی عرضه متقاطع آنتی ژن اگزوژن توسط MHC-I. این فرآیند تنها در APCهای خاصی رخ داده و امکان اتصال MHC-I به آنتی ژن هایی را امکان پذیر می سازد که توسط مکانیسم های اندوسیتوزی و بیگانه خواری حاصل شده اند.

- عرضه آنتی‌ژن‌های غیر پپتیدی

به دلیل اهمیت این موضوع، بحث عرضه آنتی‌ژن‌ها تا اینجا، به آنتی‌ژن‌های پپتیدی و عرضه آنها با مولکول‌های MHC-I و MHC-II کلاسیک معطوف شد، اما به خوبی مشخص شده است که آنتی‌ژن‌های غیر پروتئینی نیز توسط سلول‌های T شناسایی می‌شوند. در سال ۱۹۸۰ تکثیر سلول‌های T در حضور آنتی‌ژن‌های غیرپروتئینی مشتق از عوامل عفونت‌زا، مشخص شد. گزارش های اخیر نشان می‌دهند که سلول‌های T عرضه کننده γδTCR با آنتی‌ژن‌های گلیکولیپیدی مشتق شده از باکتری‌هایی همچون مایکوباکتریوم واکنش می‌دهند.

www.bbooks.ir

این آنتی‌ژن‌های غیر پروتئینی توسط اعضایی از خانواده CD1 عرضه می‌شوند. خانواده مولکول‌های CD1 با β2 میکروگلبولین همراه می‌شوند و یک ساختار عمومی مشابه مولکول‌های MHC-I دارند. پنج ژن (CD1A-E) مولکول‌های CD1 انسانی را کد می‌کنند. ژن‌های این خانواده در مجموعه MHC نمی‌باشند و بر روی کروموزوم ۱ قرار دارند (شکل ۲۵-۸). این ژن‌ها بر حسب همسانی توالی در دوگروه دسته‌بندی می‌شوند. گروه ۱ شامل CD1A, B, C,E بوده و CD1D در گروه ۲ قرار دارد. شباهت توالی CD1 با مولکول‌های کلاس Iکلاسیک به طور قابل توجهی کمتر از شباهت مولکول‌های کلاس I با یکدیگر می‌باشد. مقایسه ساختار سه بعدی CD1 موش با مولکول H-2Kd نشان می‌دهد که شیار متصل شونده به آنتی‌ژن مولکول CD1 عمیق‌تر و حجیم‌تر از شیار مولکول MHC-I کلاسیک می‌باشد (شکل ۲۵-۸).



شکل ۲۵-۸: ساختار یک مولکول CD1. (a) ژن های کدکننده خانواده مولکول های CD1 در انسان (بالا) و موش (پایین). این ژن ها بر حسب ماهیت توالی خود به دو گروه مجزا دسته بندی می شوند. ژن های CD1A, B, C, E در گروه ۱ و CD1D در گروه ۲ جای می گیرند. (b) مقایسه ساختارهای کریستالی مولکول CD1 غیرکلاسیک موش و مولکول کلاسیک $H\text{-}2K^b$.

www.bbooks.ir

عرضه مولکول‌های CD1 برحسب زیر مجموعه آنها متفاوت می‌باشد، به گونه‌ای که ژن‌های CD1D1 عمدتاً در APCهای غیرحرفه‌ای و در زیر مجموعه خاصی از سلول‌های B عرضه می‌شوند. CD1d1 موش، توزیع گسترده‌تری داشته و بر روی سلول‌های T،B، دندریتیک، هپاتوسیت‌ها و اکثر سلول‌های اپی‌تلیال یافت می‌شود. ژن CD1 آشکار ساخته است که این آنتی‌ژن‌ها، اجزای لیپیدی(اسیدمایکولیک) دیواره سلولی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس می‌باشند. مطالعه بیشتر عرضه CD1 نشان داده است که یک گلیکولیپید (لیپوآرابینومانان) مایکوباکتریوم لپره نیز می‌تواند با این مولکول‌ها عرضه شود. یافته‌های مربوط به عرضه آنتی‌ژن با CD1 مؤید وجود یک مسیر سوم برای پردازش آنتی‌ژن می‌باشد؛ این مسیر با مراحل مختلف داخل سلولی صورت می‌گیرد که مولکول‌های دخیل در پردازش آنتی‌ژن کلاس I در آن نقش ندارند. به عنوان مثال، مولکول‌های CD1 قادرند آنتی‌ژن را در سلول‌های باTAP ناقص نیز پردازش کنند. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که مولکول‌های CD1، مسیرهای عبور و مرور متفاوتی دارند، به طوری که CD1a در سطح یا درون ساختارهای اندوزومی بازیافتی و CD1b و CD1d در ساختارهای لیزوزومی قرار دارند. در ابتدا تصور می‌شد که انواع سلول‌های T که توسط CD1 فعال می‌شوند به سلول‌های Tدارای γδTCR محدود می‌شوند، اما گزارشات اخیر نشان می‌دهد که طیف وسیعی از انواع سلول‌های T می‌توانند سلول‌های عرضه کننده CD1 را شناسایی کنند. شواهد اخیر حاکی از آن است که سلول‌های T کشنده طبیعی (NKT) مولکول‌های CD1d عرضه کننده آنتی‌ژن‌های اتولوگ و گلیکواسفنگولیپیدهای باکتریایی را شناسایی می‌کنند واین امر نشان از نقش آنها رد پاسخ ایمنی ذاتی به برخی باکتری‌ها می‌باشد.

www.bbooks.ir

- خلاصه

- مجموعه اصلی سازگاری بافتی (MHC) مولکول‌های کلاس I و II را کد می‌کند که در عرضه آنتی‌ژن به سلول‌های T نقش دارند.
- ژن‌های MHC کاملاً به یکدیگر شبیه بوده و عموماً از هر والد به صورت یک واحدژنی (هاپلوتایپ) به ارث می‌رسند.
- ژن‌های MHC پلی‌مورفیک می‌باشند.
- مولکول‌های MHC-I متشکل از یک زنجیره بزرگ گلیکوپروتئینی و β2 میکروگلبولین می‌باشند.
- نقشه‌های دقیق MHC انسان و موش وجود ژن‌های دخیل در پردازش آنتی‌ژن نظیر پروتئازوم و TAP را آشکار می‌سازند.
- آلل‌های MHC، پاسخ ایمنی، توانایی عرضه آنتی‌ژن و استعداد ابتلا به برخی بیماری‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند.
- در مجموع مولکول‌های کلاس I، آنتی‌ژن اندوژن پردازش شده را به سلول‌های Tc و مولکول‌های کلاس II آنتی‌ژن‌اگزوژن پردازش شده را به سلول‌های T_H عرضه می‌کنند.
- آنتی‌ژن‌های اندوژن توسط پروتئازوم‌ها در سیتوزول به پپتیدها شکسته می‌شوند، در ER با مولکول‌های کلاس I همراه شده و در روی غشا به سلول‌های $CD8^+Tc$ عرضه می‌شوند.
- آنتی‌ژن‌های اگزوژن به درون سلول کشیده شده، در ساختارهای اندوستیوزی اسیدی تجزیه شده وسپس برای عرضه به سلول‌های $CD4^+T_H$ با مولکول‌های کلاس II همراه می‌شوند.

www.bbooks.ir

- اتصال پپتید به مولکول‌های کلاس II مستلزم مبادله آنها با یک قطعه از زنجیره نامتغیر داخل شیار می‌باشد که این فرآیند با مولکول MHC غیر کلاسیک HLA-DM کاتالیز می‌شود.
- آنتی‌ژن‌های پپتیدی اگزوژن در برخی سلول‌ها ممکن است از طریق فاگوزوم‌ها (در فرآیند عرضه متقاطع) به مسیرهای عرضه کلاس I دست یابند.
- عرضه آنتی‌ژن‌های غیر پپتیدی مشتق از باکتری‌ها با مولکول‌های CD1 شبه کلاس I در ارتباط می‌باشد.

- سئوالات درسی

۱-کدام یک از گزینه‌های زیر درست و کدام یک نادرست است. در صورتی که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

الف) یک آنتی‌بادی منوکلونال ویژه β2 میکروگلبولین را می‌توان برای شناسایی هر دو مولکول K MHC-I و D بر سطح سلول‌ها استفاده کرد.

ب) APCها بر روی غشای خود هر دو مولکول MHC کلاس I و II را عرضه می‌کنند.

پ) ژن‌های MHC-III پروتئین‌های غشایی را کد می‌کنند.

ت) در جمعیت برون‌زا، یک فرد به احتمال زیاد با یکی از والدین خود (در مقایسه با خواهر و برادر) سازگاری بافتی دارد.

ث) مولکول‌های MHC-II نسبت به MHC-I به پپتیدهای طویل‌تری متصل می‌شوند.

ج) تمام سلول‌های MHC-I را عرضه می‌کنند.

چ) بیشتر پپتیدهایی که همراه با مولکول های MHC-I و II بر روی سلول‌ها عرضه می‌شوند، از پپتیدهای خودی مشتق می‌شوند.

www.bbooks.ir

۲- شما یک موش BALB/c ($H-2^d$) را با یک موش CBA($H-2^k$) آمیزش داده‌اید. کدام مولکول‌هایMHC در زاده‌های نسل اول بر روی سلول‌های کبدی و ماکروفاژها بیان می‌شوند؟

۳- برای انجام مطالعات بر روی ساختارو عملکرد مولکول K^b MHC-I و Ia^b MHC-II، تصمیم می‌گیرند ژن‌های کد کننده این پروتئین‌ها را به یک رده سلول فیبروبلاست موش (Lcell) حاصل از سویه C3H ($H-2^k$) وارد کنید (سلول‌های L به طور طبیعی APC نمی‌باشند). در جدول زیر نشان دهید که مولکول‌های MHC ذکر شده بر روی غشای سلول‌های L آلوده بیان می‌شوند (+) یاخیر (-).

Transfected gene	MHC molecules expressed on the membrane of the transfected L cells					
	D^k	D^b	K^k	K^b	IA^k	IA^b
None						
K^b						
$IA\alpha^b$						
$IA\beta^b$						
$IA\alpha^b$ and $IA\beta^b$						

۴- سویه موش SJL که دارای هاپلوتایپ $H-2^5$ می‌باشد، دچار حذف جایگاه IEα شده است.

الف) مولکولهای MHC کلاسیک عرضه شده روی غشای ماکروفاژهای موش SJL را نام ببرید.

ب) در صورتی که ژن‌های کلاس II IEα و IFβ سویه $H-2^k$ به ماکروفاژهای SJL منتقل شوند، کدام یک از مولکول‌های MHC کلاسیک دیگر بر روی ماکروفاژهای آلوده شده عرضه می‌شوند؟

www.bbooks.ir

۵-دیاگرامی رسم کنید که ساختار عمومی دومن‌های مولکول MHC-I، II و آنتی‌بادی غشای سلول B را نشان دهد.

۶- یکی از مشخصات بارز MHC داشتن تعداد زیادی آلل‌های مختلف در هر جایگاه می‌باشد.

الف) بیشتر بنیان‌های پلی‌مورف اسیدآمینه در کدام بخش مولکول‌های MHC واقع شده‌اند؟ کدام یک از این موقعیت‌ها اهمیت دارد؟

ب) پلی‌مورنیسم MHC چگونه ایجاد می‌شود؟

۷- شما به عنوان یک دانشجو، در آزمایشگاه ایمنی‌شناسی، سلول‌های طحال یک موش ایمن شده با ویروس LCM را گرفته‌اید. فعالیت عملکردی ویژه آنتی‌ژن این سلول‌ها را دردو آزمون مختلف تعیین می‌کنید. در آزمون ۱ سلول‌های طحال با ماکروفاژهایی انکوبه می‌شوند که به طور ناچیز به LCMV مواجه شده‌اند وتولید IL-2 در آنها نشان دهنده پاسخ مثبت می‌باشد. در آزمون ۲ سلول‌های طحال با سلول‌های هدف‌آلوده به LCMV انکوبه می‌شوند، لیز این سلول‌های هدف، معرف پاسخ مثبت در این آزمون می‌باشد. نتایج این آزمون با استفاده از ماکروفاژها و سلول‌های هدف با هاپلوتایپ‌های مختلف در جدول زیر آمده است.

Mouse strain used as source of macrophages and target cells	MHC haplotype of macrophages and virus-infected target cells				Response of spleen cells	
	K	IA	IE	D	IL-2 production in response to LCM-pulsed macrophages (assay 1)	Lysis of LCM-infected cells (assay 2)
C3H	*k*	*k*	*k*	*k*	+	–
BALB/c	*d*	*d*	*d*	*d*	–	+
(BALB/c × B10.A)F_1	*d/k*	*d/k*	*d/k*	*d/d*	+	+
A.TL	*s*	*k*	*k*	*d*	+	+
B10.A (3R)	*b*	*b*	*b*	*d*	–	+
B10.A (4R)	*k*	*k*	–	*b*	+	–

الف) فعالیت کدام جمعیت سلولی در هریک از این دو آزمون تعیین می‌شود؟

www.bbooks.ir

ب) فعالیت عملکردی کدام مولکول MHC در هریک از این دو آزمون تعیین می‌شود؟

پ) بر طبق نتایج این آزمایش، کدام مولکول‌های MHC، علاوه بر ویروس LCM برای واکنش اختصاصی سلول‌های طحال در هریک از این دو آزمون لازم می‌باشند؟

ت)چه آزمایش‌های دیگری می‌توان انجام داد تا اثبات کرد MHC برای واکنش اختصاصی آنتی‌ژن سلول‌های طحال لازم می‌باشند؟

ث) کدام یک از سویه‌های موش ذکر شده در جدول می‌تواند منبع سلول‌های ایمن شده باشند؟ دلایل خود را بیان کنید.

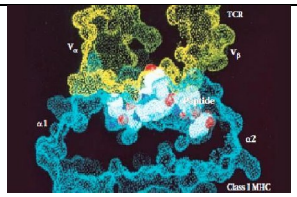
www.bbooks.ir

فصل نهم

پذیرنده سلول T

- مطالعات اولیه پذیرنده سلول T
- نقش و ساختار پذیرنده‌های $\alpha\beta$ و $\gamma\delta$ سلول T
- سازمان یابی و بازآرایی ژن‌های TCR
- مجموعه پذیرنده سلول T: TCR-CD3
- مولکول‌های کمکی سلول T
- ساختارهای سه بعدی مجموعه‌های پپتید TCR-MHC
- آلوراکتیویتی سلول T

www.bbooks.ir



ماهیت پاسخ‌های ویژه آنتی‌ژن سلول Tحاکی از این می‌باشد که سلول‌هـای T دارای یـک پذیرنده با محدودیت کلونال و ویژه آنتی‌ژن می‌باشند. با این وجود ماهیت ایـن پذیرنـده تـا مدت‌ها پس از شناسایی BCR ناشناخته باقی ماند. نتایج آزمایشگاهی مربوط بـه ایـن امـر، ضد و نقیض بوده و درک آن با یک مدل ماده دشوار مـی‌باشـد، چـرا کـه پذیرنـده سـلول T(TCR) با پذیرنده سلول B تفاوت‌های عمده‌ای دارد. اول این که TCR بـه غشـا متصـل بوده و به نظر نمی‌رسد که مانند ECR به شکل محلول وجود داشته باشد. از این رو ارزیابی ساختار آن با روش‌های کلاسیک بیوشیمیایی دشوار می‌باشد و جهت بررسی و تعیین ویژگی آن به آزمون‌های سلولی پیچیده نیاز می‌باشد. دوم این که برهمکنش و اتصال پذیرنـده‌هـای سلولT به آنتی‌ژن ضعیف‌تر از آنتی‌بادی می‌باشد و به آزمون‌های حساس‌تری نیاز دارد. در نهایت این که اکثر TCRها نه تنها برای آنتی‌ژن، بلکه برای آنتی‌ژن متصل به یک مولکـول کد شده توسط MHC نیز اختاصصی می‌باشد. این ویژگی مانع از تخلیص TCR با روش‌های ساده اتصال به آنتی‌ژن می‌شود و بررسی این پذیرنده نیازمند سیستم آزمایشـگاهی پیچیـده می‌باشد.

- مطالعات اولیه TCR

در اوایل دهه ۱۹۸۰ محققین شناخت زیادی در مورد عملکرد سلول T به دست آوردنـد، اما تلاش‌های چندانی جهت شناخت و جداسازی پذیرنده متصل شونده به آنتی‌ژن صـورت نگرفت. با این وجود، اختلافات بین عملکردهای شناسایی سلول‌های B و T موجب شـد تـا تلاش‌های آزمایشگاهی جهت بررسی شباهت‌های ساختاری بین ایمونوگلبولین‌ها و TCRهـا

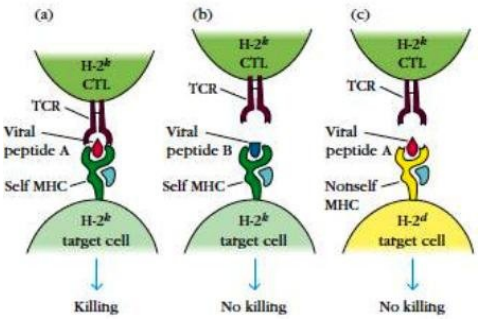
www.bbooks.ir

انجام گیرد. گزارشات دهه ۱۹۷۰ حاکی از کشف ایزوتایپ‌های Ig همراه با سلول T (IgI) و آنتی‌سرم بود که شاخص‌های ناحیه متغیر مشترک بر روی آنتی‌بادی‌ها و TCRها را با ویژگی یکسان شناسایی می‌کنند. صحت این آزمایشات اثبات نشد چرا که مشخص شد TCR و Ig عوامل شناساگر مشترکی نداشته و هریک از این عوامل توسط خانواده‌های ژنی مجزایی کد می‌شوند.

- آزمایشات کلاسیک، محدودیت TCR به MHC خودی را اثبات کرده‌اند

در اوایل دهه ۱۹۷۰ ایمونولوژیست‌ها متوجه شدند که می‌توانند CTL های ویژه سلول‌های هدف آلوده به ویروس ایجاد کنند. به عنوان مثال زمانی که موش‌ها با ویروس LCM آلوده شوند، CTL هایی را تولید می‌کنند که در شرایط in vitro قادر به لیز سلول‌های هدف آلوده به LCMمی‌باشند با این،حال، CTLها نمی‌توانند به ویروس LCM آزاد یا آنتی‌ژن‌های ویروسی آزاد متصل شوند. پاسخ به این سئوال از آزماشات کلاسیک زینگرناگل و هر دو هرتی در سال ۱۹۷۴ به دست آمد (شکل ۱۵-۸).

این مطالعات نشان می‌دهند که شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول T نه تنها برای آنتی‌ژن ویروسی به تنهایی، بلکه برای آنتی‌ژن همراه با یک مولکول MHC نیز اختصاصی می‌باشد (شکل ۱-۹).



شکل ۱-۹: محدودیت TCR به MHC خودی.

www.bbooks.ir

این خصوصیت،محدودیت بهMHCخودی نامیده شده و موجب تمایز روند شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول‌های B و سلول‌های T می‌شود.

دو مدل برای توضیح محدودیت TCR به MHC پیشنهاد شده است. مدل dual-receptor یک سلول T را یا دو پذیرنده مجزا نشان می‌دهد: یک برای آنتی‌ژن و دیگری برای مولکول‌های MHC کلاس I یا II و مدل altered-sefl پیشنهاد می‌کند که تنها یک پذیرنده که تغییر در مولکول‌های MHC خودی را تشخیص می‌دهد از طریق اتصال این مولکول‌ها با آنتی‌ژن‌های بیگانه تحریک می‌شود. آزمایشات کاپلر و ماراک اثبات نمود که پذیرنده هم برای MHC و هم برای آنتی‌ژن ویژگی دارد. اطلاعات عملکردی قابل توجهی از زمان تأیید مدل altred-self به دست آمده است.

- TCRها با استفاده از آنتی‌بادی‌های کلونوتایپ جداسازی شده است

شناخت و جداسازی TCR با تولید مقادیر زیادی از آنتی‌بادی منوکلونال برای کلون‌های مختلف سلول T و سپس غربالگری آنتی‌بادی‌ها جهت تشخیص یک آنتی‌بادی ویژه کلون یا کونوتایپ صورت گرفت. تصور می‌شود این تکنیک بایستی تفاوت‌های ساختاری عمده را در پذیرنده‌ای از یک کلون دیگر تشخیص دهد و کلون سلول T بایستی یک شاخص آنتی‌ژنی مشابه با شاخص ایدیوتایپ داشته باشد. محققین در اوایل دهه ۱۹۸۰ این پذیرنده را جدا کردند و دریافتند که آن، هترودایمری متشکل از زنجیره‌های α و β می‌باشد.

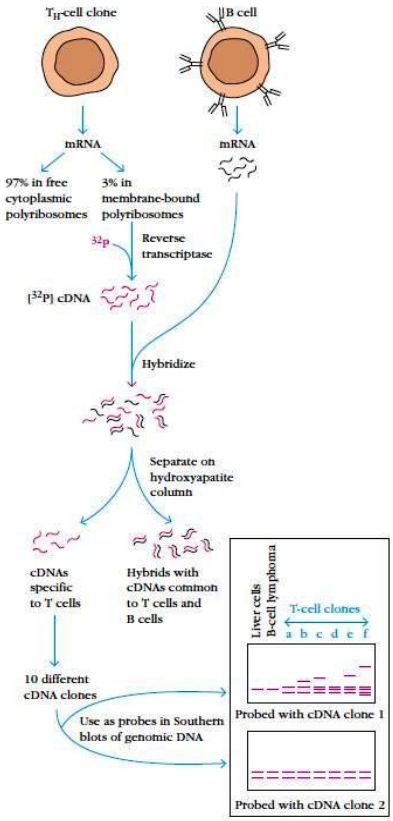
زمانی که با استفاده از هترودایمرهای βα، آنتی‌سرم تهیه شود، برخی از آنتی‌سرم‌ها به هترودایمرهای αβ تمام کلون‌ها متصل می‌شوند، در حالی که آنتی‌سرم‌های دیگر، ویژه کلون می‌باشند. این یافته‌ها حاکی از آن می‌باشد که توالی اسید آمینه زنجیره‌های α و TCR β دارای نواحی ثابت و متغیر می‌باشند که توسط آنتی‌بادی‌ها شناسایی شده و به عنوان شاخص‌های ایزوتایپی و ایدیوتایپی شناخته می‌شوند. نوع دیگری از هترودایمرهای TCR متشکل از زنجیره‌های γ و δ نیز شناخته شده است.

www.bbooks.ir

در انسان و موش اکثر سلول‌های T، هترودایمرهای βα را عرضه می‌کنند و بقیه سلول‌های T، هترودایمر γδ را بارز می‌کنند.

- ژن زنجیره TCR β با استفاده از دورگه سازی حذفی، کلون شده است

هدریک و دیویس جهت شناسایی و جداسازی ژن‌های TCR، RNA کدکننده زنجیره‌های α و β یک کلون سلول T_H را جدا کردند. البته این کار چندان ساده نمی‌باشد، چرا که mRNA پذیرنده تنها بخشی از کل mRNA سلولی را شامل می‌شود (شکل ۲-۹).



شکل ۲-۹: تولید و شناسایی یک کلون cDNA کدکننده پذیرنده سلول T.

www.bbooks.ir

از آنجایی که تنها ۳٪ mRNA لنفوسیت‌ها در بخش ریبوزومی غشا می‌باشد. این مرحله موجب حذف ۹۷٪ mRNA سلولی می‌شود. پس از آن، هدریک و دیویس جهت حذف cDNA نشاندار با P^{32} که منحصر به سلول‌های T نمی‌باشد، از روشی تحت عنوان دورگه سازی حذفی DNA بهره گرفتند. استدلال آنها برای این مرحله مبتنی برآزمون های قبلی دیویس بود که نشان داد، ۹۸٪ ژن‌هایی که در لنفوسیت‌ها بیان می‌شوند، بین سلول‌های B و Tمشترک می‌باشند. ۲٪ ژن‌های بیان شده که منحصر به سلول‌های T می‌باشند شامل ژن‌های کد کننده سلولT می‌باشند. بنابراین با دورگه‌سازی حذفی، توانستندcDNAهایی که بین سلول‌های T و B مشترک می‌باشند را حذف کنند. تصور می‌شود، cDNA نشاندار با P^{32} که هیبرید نشده و پس از این مرحله باقی‌می‌ماند، معرف mRNA پلی‌ریبوزومی می‌باشد که منحصر به کلون سلول T_H بوده و شامل mRNA کد کننده TCR می‌باشد.

کلون کردن GDNA هیبرید نشده نشاندار شده با P^{32} موجب تشکیل یک کتابخانه از ۱۰ کلون مختلف cDNA می‌باشد که شناسایی شده است. جهت شناسایی کلون‌های cDNA ویژه سلول Tکه مختص TCR می‌باشد، تمام آنها به عنوان پروب‌هایی برای جستجوی ژن‌های بازآرایی شده در سلول‌های T بالغ مورد استفاده قرار گرفت. این روش مبتنی بر این فرض می‌باشد که از آنجایی که TCR βα دارای نواحی ثابت و متغیر می‌باشد، ژن‌های آنها نیز دچار بازآرایی DNA می‌شوند.

این دو محقق، DNA سلول‌های B،T ،کبدی و ماکروفاژها را با آنالیز لکه‌گذاری ساترن مورد بررسی قرار دادند و اتصال پروب نشان می‌دهد که بازآرایی DNA در سلول‌های T صورت گرفته اما در سلول‌های دیگر این اتصالات وجود ندارد.

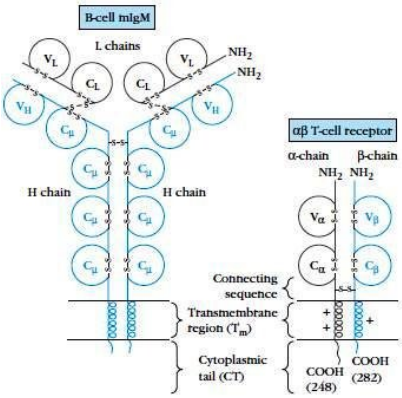
این پروبcDNA، ۶ الگوی مختلف DNA از ۶ دودمان مختلف سلول T بالغ را شناسایی می‌کند (شکل ۲-۹). تصور می‌شود که این الگوهای مختلف، نمایانگر ژن‌های بازآرایی شده TCR می‌باشند. این نتایج در مواردی که ژن‌های بازآرایی شده TCR تنها در سلول‌های T بالغ وجود داشته باشند مورد انتظار می‌باشد. مشاهداتی از این که هر یک از ۶ دودمان

www.bbooks.ir

سلول T الگوهای کله‌گذاری ساترن متفاوتی را نشان می‌دهند، با تفاوت‌های مورد انتظار در ویژگی TCR هر یک از دودمان‌های سلول T اثبات شد.

- نقش و ساختار TCR βα و δγ سلول T

ساختارهای هتروداپمرهای βα و TCRδγ، مشابه با ساختار دومن هتروداپمرهای ایمونوگلبولین‌ها می‌باشد، بنابراین به عنوان اعضایی از خانواده بزرگ ایمونوگلبولین دسته‌بندی می‌شوند. هر یک از زنجیره‌های TCR دارای دومن‌های حاوی یک پیوند دی‌سولفید داخل زنجیره‌ای می‌باشند که حاوی ۶۰ تا ۷۵ اسیدآمینه می‌باشند. دومن انتهای آمینی در هر دوی این زنجیره‌ها، تنوع توالی فوق‌العاده‌ای نشان می‌دهند اما بقیه توالی‌های هر یک از زنجیره‌ها، حفاظت شده می‌باشند. از این رو دومن‌های TCRاز لحاظ ساختاری مشابه با دومن‌های C و V ایمونوگلبولین‌ها می‌باشند و مولکول TCR مشابه یک قطعه Fab متصل به غشای سلول می‌باشد (شکل ۳-۹).



شکل ۳-۹: دیاگرام شماتیکی از شباهت ساختاری بین IgM غشایی سلول B و αβT.

دومن‌های متغیر TCR سه ناحیه فوقاالعاده متغیر دارند که به نظر می‌رسند معادل CDRهای زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلبولین باشند.

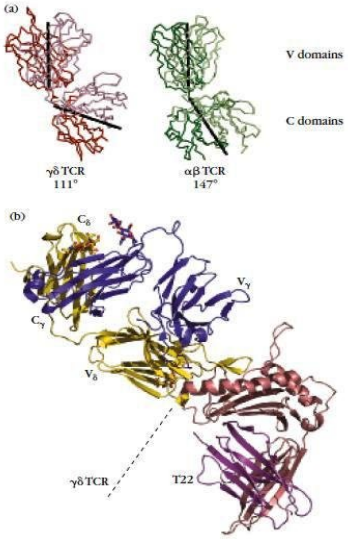
www.bbooks.ir

هر یک از زنجیره‌ها علاوه بر دومن ثابت دارای یک توالی اتصالی کوتاه می‌باشند که در آن یک بینان سیستیئن، یک پیوند دی‌سولفید با زنجیره دیگر این هترودایمر تشکیل می‌دهد. پس از ناحیه اتصالی، یک ناحیه غشاگذر با ۲۱ یا ۲۲ اسیدآمینه می‌باشد که در هر زنجیره در غشای پلاسمایی لنگر انداخته است. دومن‌های غشاگذر هر دوی این زنجیره‌ها دارای بنیان‌های اسیدآمینه با بار منفی می‌باشند.

اکثر سلول‌های T در گردش خون انسان و موش، پذیرنده‌های سلول T βα را عرضه می‌کنند. این پذیرنده‌ها با آنتی‌ژن‌های پپتیدی پردازش شده و عرضه شده بر روی سطح APCها، واکنش می‌دهند. به تازگی مشخص شده است که برخی از سلول‌های δγ با آنتی‌ژن‌های پروتئینی پردازش نشده و عرضه نشده توسط مولکول‌های MHC واکنش می‌دهند.

تفاوت‌های نواحی متصل شونده به آنتی‌ژن βαTCR . δγ TCR به علت این که آنتی‌ژن‌های مختلفی را شناسایی می‌کنند، قابل پیش‌بینی می‌باشد. آلیسون و گاربوکزی پذیرنده δγ را مورد مطالعه قرار دادند که اغلب در خون محیطی انسان یافت می‌شود (δ2 و γ8). شیار عمیقی در سطح این مولکول، فسفولیپید میکربی را در خود جای می‌دهد که پذیرنده δγ برای آن اختصاصی می‌باشد. این آنتی‌ژن بدون عرضه توسط MHC شناسایی می‌شود. جالب‌ترین مشخصه این ساختار، چگونگی تفاوت آن با پذیرنده βα در جهت‌گیری نواحی C و Vمی‌باشد. ناحیه‌ای تحت عنوان زانویی بین محورهای طویل نواحی Vو C δγTCR ، زاویه °۱۱۱داشته و در مورد βαTCR، °148 می‌باشد (شکل ۴-۹).

www.bbooks.ir



شکل ۴-۹: مقایسه ساختارهای کریستالی αβTCR و γδTCR. (a) مقایسه زاویه زانویی مولکول γδ انسان با αβ. (b) مجموعه γδTCR موش با مولکول MHC غیرکلاسیک T22.

پس این افراد با استفاده از رزونانس پلاسمونی سطحی نشان دادند که اتصال بین TCR δγ و یک مولکو MHC-I غیر کلاسیک به نام T22، بسیار قوی می‌باشد (Kd=۰/۱M). ساختار این مجموعه نشان می‌دهد که تماس اساسی بین آنتی‌ژن و TCR δγ توسط حلقه CDR3 زنجیره δ می‌باشد. در واکنش بین TCRهای βα و آنی‌ژن، CDR3 یک تماس عمده با پپتید آنتی‌ژنی عرضه شده توسط مولکول‌های MHC به وجود می‌آورد. CDR1 و دو حلقه با مناطق حفاظت شده مولکول MHC واکنش می‌دهند. در واکنش بین T22-δγTCR نیز تماس CDR3 تماس عمده‌ای با آنتی‌ژن برقرار می‌کند اما این تماس، با واسطه اتصال به پپتید عرضه شده در مولکول MHC نمی‌باشد و با جایگاهی خارج از ناحیه متصل شونده به پپتید از مولکول MHC غیر کلاسیک T22 تماس ایجاد می‌شود. شناسایی مولکول T22 در غیاب پپتید، حاکی از آن است که پذیرنده δγ بیش از آن به پذیرنده‌های βα شبیه باشد به پذیرنده‌های شناساگرالگو (RRR) شبیه می‌باشد.

www.bbooks.ir

TABLE 9-1 Comparison of αβ and γδ T cells in peripheral blood

Feature	αβ T cells	γδ T cells
Proportion of $CD3^+$ cells	90–99%	1–10%
TCR V gene germ-line repertoire	Large	Small
CD4/CD8 phenotype		
$CD4^+$	~60%	<1%
$CD8^+$	~30%	~30%
$CD4^+$ $CD8^+$	<1%	<1%
$CD4^-$ $CD8^-$	<1%	~60%
MHC restriction	$CD4^+$: MHC class II	No MHC restriction
	$CD8^+$: MHC class I	
Ligands	MHC + peptide antigen	Phospholipid, intact protein

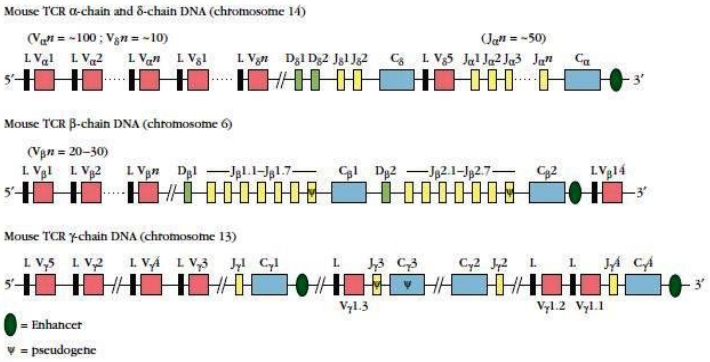
SOURCE: D. Kabelitz et al., 1999, *Springer Seminars in Immunopathology* **21** (55): 36.

- سازمان یافتگی و بازآرایی ژن‌های TCR

ژن‌هایی که پذیرنده‌های سلول βαT و δγ را کد می‌کنند، تنها در سلول‌های دودمان سلول T عرضه می‌شوند. چهار جایگاه TCR (α، β، γ و δ) در رده زایا به شیوه‌ای سازمان می‌یابند که بسیار شبیه به سازمان یافتگی ژن‌های ایمونوگلبولین می‌باشد (شکل ۵-۹).

همچنین در مورد ژن‌های Ig، ژن‌های کارآمد TCR با بازآرایی قطعات Vو J د رخانواده‌های زنجیره α و γ و قطعات V، J و D درخانواده‌های زنجیره β و δ تولید می‌شوند. در موش، قطعات ژن زنجیره α، β و γ به ترتیب در کروموزوم‌های ۱۴، ۶ و ۱۳ واقع شده‌اند. قطعات ژن زنجیره δ در کروموزوم ۱۴ بین قطعات Vα و Jα واقع شده‌اند. موقعیت خانواده ژن زنجیره δ با اهمیت می‌باشد. یک بازآرایی کارآمد قطعات ژن زنجیره α موجب حذف Cα می‌شود، به طوری که در یک سلول T، پذیرنده βαTCR به همراه پذیرنده δγ عرضه نمی‌شود. این تعهد دودمانی در عملکردهای مختلف سلول‌های βαT و γδ با اهمیت می‌باشد.

www.bbooks.ir



شکل ۵-۹: سازمان یافتگی رده زایا قطعات ژنی زنجیره α، β، γ و δ.

DNA رده زایای موش حاوی حدوداً ۸۰ قطعه Vα و Jα و یک قطعه Cα می‌باشد. خانواده ژنی زنجیره δ دارای حدوداً ۱۰ قطعه ژن V می‌باشدکه با فاصله زیادی از قطعات ژنی Vα قرار گرفته‌اند. اگرچه برخی از قطعات Vمشترک در ژن‌های بازآرایی شده زنجیره α و زنجیره δ مشاهده شده است اما دو قطعه ژن Dδ و دو قطعه ژن Jδ و یک قطعه Cδ نیز شناسایی شده‌اند. خانواده ژن زنجیرهβ ۲۰ تا ۳۰ قطعه ژن V و دو قطعه تکراری تقریباً C,J, D دارد که هریک از این قطعات تکراری دارای یک Dβ ، ۶ Jβ و یک Cβ می‌باشند (جدول ۲-۹).

TABLE 9-2 TCR multigene families in humans

Gene	Chromosome location	NO. OF GENE SEGMENTS* V	D	J	C
α Chain	14	54		61	1
δ Chain†	14	3	3	3	1
β Chain‡	7	67	2	14	2
γ Chain§	7	14		5	2

*Not all gene segments listed here give rise to TCR products; pseudogenes are included in this list.
†The δ-chain gene segments are located between the V_α and J_α segments.
‡There are two repeats, each containing one D_β, six or seven J_β, and One C_β.
§There are two repeats, each containing two or three J_γ and One C_γ.
SOURCE: Data from Immunogenetics Database, http://imgt.cines.fr.

www.bbooks.ir

این خانواده ژنی در انسان و موش شامل اعضای جهش یافته نیز می‌باشند که آنها را به صورت غیرکارآمد در می‌آورد. این ژن‌ها معمولاً به طور طبیعی به عنوان ژن‌های این خانواده ژنی محسوب می‌شوند اما جزو ژن‌های کارآمد نمی‌باشند. به عنوان مثال جدول ۳-۹ تنها شامل ژن‌های کارآمد می‌باشد، چرا که ژن‌های کاذب در تنوع ژنی دخیل نمی‌باشند. شکل ۵-۹ مربوط به ژن‌های رده زایا می‌باشد.

TABLE 9-3 Sources of possible diversity in mouse immunoglobulin and TCR genes

Mechanism of diversity	IMMUNOGLOBULINS H Chain	IMMUNOGLOBULINS κ Chain	αβ T-CELL RECEPTOR α Chain	αβ T-CELL RECEPTOR β Chain	γδ T-CELL RECEPTOR γ Chain	γδ T-CELL RECEPTOR δ Chain
ESTIMATED NUMBER OF FUNCTIONAL GENE SEGMENTS*						
V	101	85	79	21	7	6
D	13	0	0	2	0	2
J	4	4	38	11	3	2
POSSIBLE NUMBER OF COMBINATIONS†						
Combinatorial V-J and V-D-J joining	$101 \times 13 \times 4$ 5.3×10^3	85×4 3.4×10^2	79×38 3.0×10^3	$21 \times 2 \times 11$ 4.6×10^2	7×3 21	$6 \times 2 \times 2$ 24
Alternative joining of D gene segments	–	–	–	+ (some)	–	+ (often)
Junctional flexibility	+	+	+	+	+	+
N-region nucleotide addition‡	+	–	+	+	+	+
P-region nucleotide addition	+	+	+	+	+	+
Somatic mutation	+	+	–	–	–	–
Combinatorial association of chains	+		+		+	

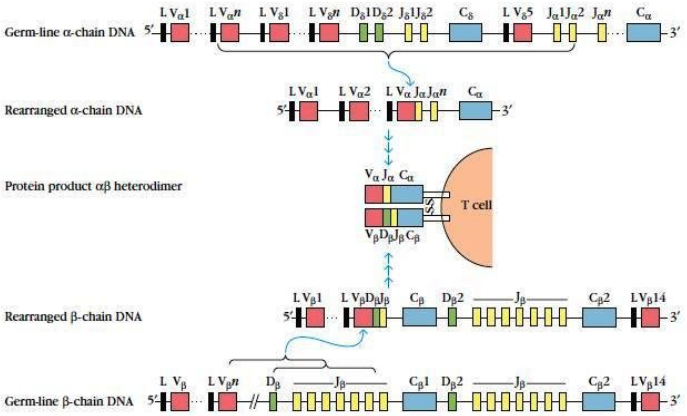
*Immunoglobulin data from Table 5-2; TCR data from Baum et al., 2004, *Nucleic Acids Research* 32:D51.
†A plus sign (+) indicates mechanism makes a significant contribution to diversity but to an unknown extent. A minus sign (–) indicates mechanism does not operate.
‡See Figure 9-8d for theoretical number of combinations generated by N-region addition.

- بازآرایی ژن‌های ناحیه متغیر TCR، مشابه با ژن‌های آنتی‌بادی می‌باشد

زنجیره α توسط قطعات ژن J،V و C کد می‌شود. زنجیره β توسط قطعات ژنی C، J، D و V کد می‌شود. بازآرایی قطعات ژنی زنجیره α و TCR β موجب اتصال VJ به زنجیره α و اتصال VDJبه زنجیره β می‌شود (شکل ۶-۹).

پس از نسخه‌برداری از ژن‌های بازآرایی شده TCR، پردازش RNA و ترجمه آن، زنجیره‌های α و β به صورت هترودایمرهایی با پیوند دی‌سولفید بر روی غشای سلول T عرضه می‌شوند. هر ناحیه ثابت TCR شامل یک دومن ثابت، یک توالی اتصالی، یک توالی غشاگذر و یک توالی سیتوپلاسمی می‌باشد.

www.bbooks.ir



شکل مروری ۶-۹: نمونه ای از بازآرایی که موجب تشکیل یک ژن کارآمد کدکننده پذیرنده αβ سلول T می‌شود.

DNA رده زایا که نواحی ثابت زنجیره α و TCR β را کد می‌کنند خیلی ساده تر از DNA رده زایای زنجیره سنگین ایمونوگلبولین می‌باشد. DNA زنجیره TCRα تنها یک قطعه ژن C دارد. DNA زنجیره β شامل دو قطعه ژن C و J می‌باشد. محصولات پروتئینی این دو گروه ژنی تنها در چند اسید آمینه تفاوت داشته و عملکرد آنها کاملاً مشابه می‌باشد.

- مکانیسم‌های بازآرایی DNA پذیرنده سلول T

به نظر می‌رسد مکانیسم‌هایی که از آن طریق، DNA رده زایا TCR بازآرایی شده و ژن‌های کارآمد پذیرنده حاصل می‌شوند، مشابه مکانیسم‌های بازآرایی ژن Ig باشند. به عنوان مثال، توالی‌های پیام نوترکیبی حفاظت شده نونامر و هپتامر (RSSs) شامل هر دو توالی جدا کننده یک پیچ (۱۲ جفت بازی) و دو پیچ (۲۳ جفت بازی) بوده و در کنار DNA رده زایای TCR، قطعات ژن V، D، J قرار دارند (شکل ۶-۵). تمام بازآرایی‌های ژن TCR نیز از قانون یک پیچ/دوپیچ همانند ژن‌های Ig پیروی می‌کنند، بنابراین نوترکیبی تنها بین دو نوع RSS مختلف صورت می‌گیرد.

www.bbooks.ir

سلول‌های پیش‌ساز T نیز مانند سلول پیش‌سازB، ژن‌های فعال کننده نوترکیبی (RAG-2,RAG-1) را بیان می‌کنند. آنزیم ریکامبنیاز 2,RAG1 پیام‌های نوترکیبی هپتامر و نونامر را شناسایی کرده و اتصال V-D-J,V-J را طی بازآرایی ژن TCR توسط مکانیسم‌های مشابه کاتالیز می‌کند (شکل ۷-۵). همان طور که در فصل ۵ در مورد ژن‌های Ig بحث شد، RAG-1/2 یک شکاف در DNA تک رشته‌ای بین توالی‌های پیام و توالی‌های کد کننده ایجاد می‌کند و حلقه‌های شکل گرفته در این فرآیند را قطع می‌کند. تصور می‌شود که محصولات حلقوی ناشی از این برش، با فرآیند حذفی و تشکیل حلقه‌ها در طی بازآرایی ژن TCR که در تیموسیت‌ها رخ می‌دهد، به وجود می‌آیند(شکل ۸-۵).

مطالعات بر روی موش‌های SCID، شواهدی از شباهت بازآرایی‌های ژن TCR و ژن Ig را نشان می‌دهد. موش‌های SCID در ژن مورد نیاز جهت ترمیم شکست‌های DNA دو رشته‌ای دچار نقص می‌باشند. در نتیجه این نقص قطعات ژن D و J در طی بازآرایی DNA پذیرنده سلول T و یا Ig، به یکدیگر اتصال نمی‌یابند (شکل ۱۰-۵). این یافته‌ها حاکی از آن می‌باشدکه آنزیم‌های ترمیم مشابهی در بازآرایی V-D-J سلول‌های B و T نقش دارند.

- حذف آللی ژن‌های TCR

همان‌طور که ذکر شد، ژن‌های α قرار گرفته است و با بازآرایی زنجیرهα حذف می‌شوند. این وقایع منجر به طرد غیرقابل برگشت ژن‌های α بر روی یک کروموزوم واقع شده‌اند. حذف آللی ژن‌های زنجیره‌های α، TCRβ نیز به همین ترتیب رخ می‌دهد، اما استثناهایی نیز وجود دارد.

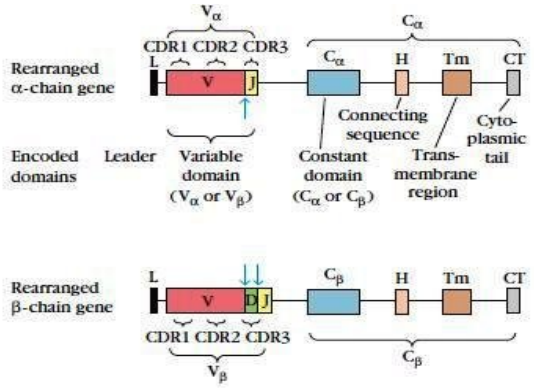
سازمان‌یافتگی قطعات ژنی C و J زنجیره‌ی β به دو گروه دوتایی به این معنی می‌باشد که در صورتی که یک بازآرایی ناکارآند رخ دهد، تیموسیت می‌تواند یک بازآرایی دیگر را صورت دهد. این مسئله شانس بازآرایی V-J کارآمد را برای زنجیره β افزایش می‌دهد. همین که بازآرایی کارآمد برای یک آلل زنجیره β صورت گرفت، بازآرایی آلل دیگر β

www.bbooks.ir

مهار می‌شود. در مورد حذف آللی، اغلب استثناهایی در ژن‌های زنجیره TCRα مشاهده می‌شود. به عنوان مثال، آنالیز کلون‌های سلول T که یک پذیرنده α/β سلول Tرا عرضه می‌کنند، آشکار ساخته است که برخی از کلون‌ها هردو آلل‌های زنجیرهα را به طور کارآمد بازآرایی می‌کنند. بنابراین، زمانی که یک لنفومای سلول T بالغ که یک پذیرنده α/β را عرضه می‌کند، شروع به تکثیر نمود، چندین ساب‌کلون حاصل می‌شود که آلل زنجیره‌های β مشابه داشته و آلل زنجیره α آنها متفاوت با آالل بیان شده توسط کلون والد می‌باشد.

- ژن‌های بازآرایی شده TCR از تجمع قطعات V، D و J به وجود می‌آیند

ساختار عمومی ژن‌های بازآرایی شده TCR در شکل ۷-۹ نشان داده شده است.



شکل ۷-۹: دیاگرام شماتیکی از ژن های بازآرایی شده αβ-TCR که اگزون های کدکننده دومن های مختلف پذیرنده αβ سلول T و موقعیت تقریبی CDRها را نشان می دهد.

نواحی متغیر پذیرنده‌های سلول T توسط توالی‌های بازآرایی شده V-J و V-D-J کد می‌شوند. به نظر می‌رسد در ژن‌های TCR ، اتصال ترکیبی قطعات ژنی Vβ، Vα، CDR1 و CDR2 را به وجود می‌آورند، در حالی که انعطاف‌پذیری اتصالاتی و اضافه شدن نوکلئوتیدهای ناحیه N موجب تشکیل CDR3 می‌شود. ژن‌های بازآرایی شده TCR همچنین دارای یک اگزون کوتاه رهبر (L) در بالادست توالی‌های V-J و V-D-J می‌باشند.

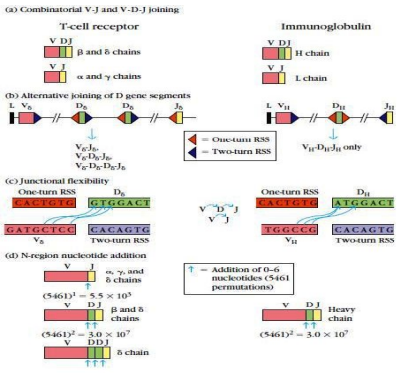
www.bbooks.ir

اسیدهای آمینه که توسط اگزون رهبر کد می‌شوند، همزمان با ورود پلی‌پپتید در حال تولید به شبکه اندوپلاسمی، شکسته می‌شود.

ناحیه ثابت هر یک از زنجیره‌های TCR توسط یک قطعه ژن C کد می‌شود و اگزون‌های متعددی دارد (شکل ۷-۹) که متناظر با دومن‌های ساختاری در پروتئین می‌باشند (شکل ۳-۹). اولین اگزون در قطعه ژنC، بیشتر دومن‌های Cزنجیره را کد می‌کند؛ اگزون بعدی، اگزون کوتاهی است که توالی اتصالی را بیان می‌کند و پس از آن اگزونی وجود دارد که ناحیه غشا گذر و دم‌سیتوپلاسمی را کد می‌کند.

- تنوع TCR نظیر تنوع آنتی‌بادی، اما بدون جهش سوماتیک ایجاد می‌شود

اگر چه DNA رده زایای TCR نسبت به DNA رده زایای Ig، قطعات ژن V بسیار کمتری دارد ولی چندین مکانیسم طی بازآرایی ژن TCR سبب تنوع بسیار بالا در TCR می‌شود. در جدول ۳-۹ و شکل ۸-۹، ایجاد تنوع ین مولکول‌های آنتی‌بادی و مولکول‌های TCR مورد مقایسه قرار گرفته است.



شکل ۸-۹: مقایسه مکانیسم های دخیل در ایجاد تنوع ژن های TCR و Ig. علاوه بر مکانیسم های نشان داده شده در شکل (a، b، c و d) اضافه شدن نوکلئوتیدها به ناحیه P در ژن های Ig و TCR رخ می‌دهد و جهش های سوماتیک در ژن های Ig صورت می گیرد. اتصال ترکیبی زنجیره های بیان شده موجب تنوع بیشتری در مولکول های TCR و Ig می شود.

www.bbooks.ir

تنوع ترکیبی قطعات ژن ناحیه متغیر، ترکیب تصادفی بسیار بالایی از زنجیره‌های TCR را به وجود می‌آورد. اگر چه قطعات ژن Vβ ، TCR Vα نسبت به قطعات V_L و V_H ایمونوگلبولین کمتر است، ولی این اختلاف با تعداد زیاد قطعات J در DNA رده زایای TCR جبران می‌شود. با فرض این که ویژگی آنتی‌ژنی یک TCR به ناحیه متغیر هر دو زنجیره بستگی دارد، ترکیب تصادفی $۳×۱۰^{۳}$ ساخت Vα با $۴×۶۵۰^{۲}$ ساختار Vβمنجر به تولید $۱/۴×۱۰^{۶}$ ساختار TCRαβ می‌شود. به بیان دیگر، در مورد ایجاد تنوع در ژن‌های متغیر TCR که در زیر شرح داده می‌شود، حداقل ۱/۴ میلیون ساختار بوجود می‌آید. همان‌طور که شکلا ۸-۹ نشان داده، موقعیت توالی‌های پیام نوترکیبی یک پیچ و دو پیچ، در DNA زنجیره δ و TCR β از DNA زنجیره سنگین Ig متفاوت می‌باشد. به علت نوع آرایش RSSها در DNA رده زایای TCR، اتصال قطعات ژنی D ممکن است طور دیگری رخ دهد، در حالی که قاعده یک پیچ/دو پیچ نیز مشاهده می‌شود. بنابراین امکان این وجود دارد که یک قطعه ژن Vβ مستقیماً به یک قطعه ژنی Dβ یا Jβ متصل شود و یک واحد (VJ)β یا (VDJ)β به وجود آید. اتصال قطعات ژنی زنجیره δ نیز می‌تواند واحدهای مشابهی را به وجود آورد. علاوه براین، یک Dδ می‌تواند به یک Dδ دیگر متصل شده و (VDDJ)δ ، (VDDDJ)δ را به وجود آورد. این مکانیسم تنوع قابل توجهی را در ژن‌های TCRبه وجود می‌آورد.

اتصال قطعات ژنی در طول بازآرایی ژن TCR، انعطاف‌پذیری اتصالی را نشان می‌دهد. همانند ژن های Ig، این انعطاف‌پذیری می‌تواند بازآرایی‌های ناکارآمد بسیاری را موجب شود، همچنین با کد کردن چندین اسیدآمینه در هریک از اتصالات نیز، تنوع افزایش می‌یابد(شکل ۸-۹). با این مکانیسم، تا ۶ نوکلئوتید می‌تواند در هر یک از اتصالات اضافه گردد و بیش از ۵۴۶۱ ساختار بوجود آورد. با این وجود برخی از این ساختارها منجر به بازآرایی‌های ناکارآمد شده و به طور ناقص موجب ختم زنجیره TCR می‌شوند و یا با جایگزینی اسیدهای آمینه دیگر موجب می‌شوند تا محصول زنجیره TCR به صورت

www.bbooks.ir

ناکارآمد باشد. اگر چه هر یک از نواحی اتصال در ژن TCR تنها ۲۰-۱۰ اسیدآمینه را کد می‌کنند ولی تنوع قابل توجهی را ممکن است در این نواحی به‌وجود آورند. برآوردها نشان می‌دهند که تنها اضافه شدن نوکلئوتیدهای ناحیه N و P و انعطاف پذیری اتصالی می‌تواند با $۱۰^{۱۳}$ توالی اسید آمینه در نواحی اتصالی TCR به وجود آورد.

مکانیسمی که از آن طریق تنوع TCR بوجود می‌آید به پذیرنده این امکان را می‌دهد که شمار زیادی از آنتی‌ژن‌های پردازش شده را شناسایی کند. محققین بر این باورند که شمار اندکی از قطعات ژنی V رد TCR DNA جهت کد کردن شمار محدودی از نواحی CDR1 و CDR2 با میل پیوندی برای نواحی مارپیچαمولکول‌های MHC گزینش می‌شوند. این عقیده جالب در مورد ساختار مجموعه MHC – پپتید- TCR صدق نمی‌کند چرا که نوع تماس بین پپیتد و CDR1 و CDR3 یکسان می‌باشد. علاوه بر این، بنیان‌های TCR که به پپتید متصل می‌شوند، نسبت به آنهایی که به MHC اتصال می‌یابند، به ندرت دارای ناحیه CDR3 بسیار متغیر می‌باشند. CDR3 پذیرنده سلول T نسبت به Igها نیز تنوع بیشتری دارد. تنوع در CDR3در نتیجه تنوع اتصالی در قطعات V، D، J، اتصالات چندین قطعه ژنی D و واردشدن نوکلئوتیدهای P و N در اتصالات V-D-J و V-J به وجود می‌آید (شکل ۷-۹).

- مجموعه پذیرنده سلول T: TCR-CD3

همان‌طور که در فصل ۴ شرح داده شد، Ig غشایی سلول‌های B با پروتئین‌های غشایی Igβ/Igα در ارتباط می‌باشدو BCR را به وجود می‌آورد (شکل ۲۲-۴). همچنین TCR با CD3 مرتبط بوده و مجموعه غشایی TCR-CD3 را به وجود می‌آورد.

اولین شواهدی که نشان داد پذیرنده سلول T با سایر مولکول‌های غشایی همراه می‌باشد از آزمایشاتی شناخته شد که در آن، آنتی‌بادی فلورسانت ضد پذیرنده موجب تجمع پروتئین غشای دیگری (CD3) می‌باشد. آزمایشات آلیسون و لانیر با استفاده از معرف‌های ایجاد

www.bbooks.ir

کننده اتصال متقاطع، نشان داد که فاصله بین دو زنجیره $A^{\cdot}$ ۱۳می‌باشد آزمایشات بعدی نشان دادند که CD3 نه تنها کاملاً در ارتباط با هترودایمر $\beta\alpha$ می‌باشد بلکه بیان آن جهت عرضه غشایی پذیرنده‌های $\beta\alpha$ و $\delta\gamma$ سلول T ضروری بوده و هر هترودایمر بر روی غشای سلول T با CD3، یک مجموعه تشکیل می‌دهد. فقدان ژن‌های کد کننده CD3 و یا زنجیره‌های TCR موجب عدم حضور این مجموعه می‌گردد.

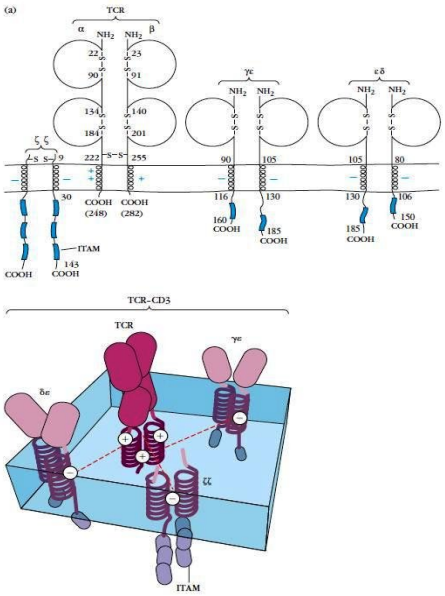
CD3 مجموعه‌ای متشکل از ۵ زنجیره پلی‌پپتیدی ثابت (نامتغیر) می‌باشد که با یکدیگر سه دایمر را تشکیل می‌دهند.

یک هترودایمر از زنجیره‌های اپسیلون و گاما ($\gamma\varepsilon$)، یک هترودایمر از زنجیره‌های اپسیلون و دلتا ($\varepsilon\delta$) و هترودایمری از زنجیره‌های زتا و اتا ($\zeta\eta$) یا همودایمری از زنجیره‌های زتا ($\zeta\zeta$)(شکل ۹-۹).

زنجیره‌های ζ و η توسط ژن‌های مشابهی کد می‌شوند، اما به علت تفاوت در پردازش RNA، در انتهای کربوکسیل با یکدیگر تفاوت دارند. حدود ۹۹٪ مجموعه‌های CD3 دارای همودایمر $\zeta\zeta$ و مابقی هترودایمر $\eta\zeta$ می‌باشند.

زنجیره‌های γ، δ و ε مولکول CD3 اعضایی از خانواده بزرگ ایمونوگلبولین بوده و هر یک دارای یک دومن خارج سلولی می‌باشند که یک ناحیه غشاگذر و پس از آن یک دومن سیتوپلاسمی با بیش از ۴۰ اسیدآمینه قرار گرفته است. زنجیره ζ ساختار متفاوتی داشته به گونه‌ای که یک ناحیه خارجی کوتاه با تنها ۱۹ اسیدآمینه، یک ناحیه غشاگذر و یک دم‌سیتوپلاسمی طویل حاوی ۱۱۳ اسیدآمینه دارد. نواحی غشاگذر تمام زنجیره‌های پلی‌پپتید CD3 دارای یک بنیان اسیدآمینه با بار منفی (اسید آسپارتیک یا گلوتامیک اسید) می‌باشند. که با یک یا دو اسید آمینه با بار مثبت در ناحیه غشاگذر هر یک از زنجیره‌های TCR واکنش می‌دهند (شکل ۹-۹).

www.bbooks.ir



شکل ۹-۹: دیاگرام شماتیکی از مجموعه TCR-CD3 که پذیرنده متصل شونده به آنتی ژن سلول T را تشکیل می دهد.

دم‌های سیتوپلاسمی زنجیره‌های CD3 دارای یک توالی با نام توالی تیزوزینی فعال‌کننده پذیرنده ایمنی (ITAM) می‌باشند. ITAMها در برخی از پذیرنده‌های دیگر نظیر هترودایمر Igβ/Igα در مجموعه BCR و پذیرنده‌های IgG Fc و IgE نیز یافت می‌شوند. مشخص شده است که جایگاههای ITAM با تیروزین کنیازهای واکنش‌داده و در انتقال پیام نقش مهمی برعهده دارند. در CD3 ، زنجیره‌های γ، δ و ε هر یک دارای یک ITAM می‌باشند، در حالی که زنجیره‌های ζ و η سه نسخه از آن را دارند (شکل ۹-۹).

- مولکول‌های کمکی سلول T

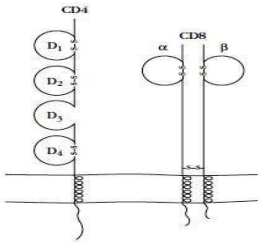
اگر چه شناسایی مجموعه MHC- آنتی‌ژن توسط مجموعه TCR-CD3 صورت می‌گیرد ولی مولکول‌های غشایی دیگری نیز در شناسایی آنتی‌ژن و فعال‌سازی سلول T، نقش کمکی

www.bbooks.ir

ایفا می‌کنند (جدول ۴-۹). برخی از این مولکول‌ها موجب استحکام واکنش بین سلول‌های T و APC یا سلول‌های هدف می‌شوند، برخی در انتقال پیام نقش داشته و برخی هر دو عملکرد را دارند.

- پذیرنده‌های CD4 و CD8 به نواحی حفاظت شده مولکول‌های MHC کلاس I و II متصل می‌شوند

سلول‌های T را می‌توان برحسب عرضه مولکول‌های غشایی CD4 و CD8 به دو گروه تقسیم نمود. همان طور که در فصل‌های قبل توضیح داده شد، سلول‌های $CD4^+T$ آنتی‌ژن را شناسایی می‌کنند که در ترکیب با مولکول‌های MHC-II بوده و به طور عمده به عنوان سلول‌های T یا دیگر عمل می‌کنند، در حالی که سلول‌های $CD8^+$ ، آنتی‌ژنی را شناسایی می‌کنند که در ترکیب با مولکول‌های MHC-I بوده و عمدتاً به عنوان سلول‌های سایتوتوکسیک عمل می‌کنند. CD4 یک گلیکوپروتئین غشایی منومر با ۵۵ کیلو دالتون می‌باشد که دارای ۴ دومن شبه ایمونوگلبولین خارج سلولی (D1-D4)، یک ناحیه آبگریز غشاگذر و یک دم‌سیتوپلاسمی می‌باشد (شکل ۱۰-۹) و دارای سه بنیان سرین می‌باشد که می‌توانند فسفریله شوند.



شکل ۱۰-۹: ساختار عمومی پذیرنده های CD4 و CD8؛ دومن های شبه ایمونوگلبولینی به صورت حلقه هایی نشان داده شده است. CD8 دارای هترودایمر αβ یا همودایمر αα می باشد. مولکول CD4 منومر دارای چهار دومن چین Ig بوده و هر زنجیره در مولکول CD8 دارای یک دومن چین Ig می باشد.

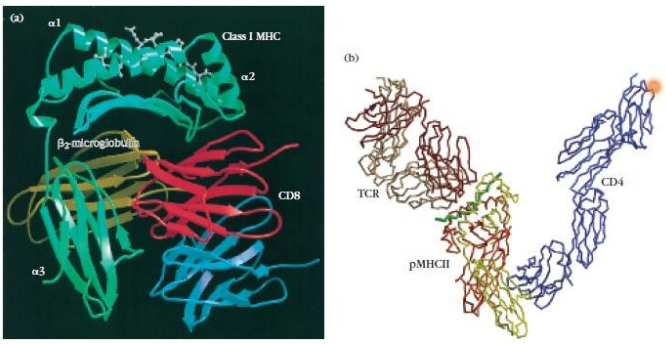
www.bbooks.ir

CD8 عموماً متشکل از یک هترودایمر βα با اتصال دی‌سولفید یا همودایمر αα می باشد. هر دو زنجیره‌های α,β CD8 گلیکوپروتئین‌های کوچکی با وزن ۳۸-۳۰ کیلو دالتون می‌باشند. هریک از این زنجیره‌ها دارای یک دومن شبه ایمونوگلبولین خارج سلولی،یک ناحیه ساقه stalk و ناحیه آبگریز غشاگذر و یک دم‌سیتوپلاسمی می‌باشند (شکل ۱۰-۹) که دارای ۲۵ تا ۲۷ بنیان می‌باشد که تعدادی از آنها ممکن است فسفریله باشند.

CD4 و CD8 را برحسب توانایی آنها در شناسایی مجموعه MHC – پپتید و نقش آنها در انتقال پیام به عنوان کمک پذیرنده دسته‌بندی می‌شوند. دومن‌های خارج سلولی CD4 و CD8 به نواحی حفاظت شده مولکول های MHC بر روی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن یا سلول‌های هدف متصل می شوند.

مطالعات بلورنگاری یک مجموعه MHC-I ، یک پپتید آنتی‌ژن و یک همودایمر CD8 αα نشان می‌دهد که CD8 با اتصال از طریق دومن‌های α2 و α3 MHC-Iو همچنین β2 میکروگلبولین به مولکول‌های MHC-I متصل می‌شود (شکل ۱۱-۹). در این اتصال، جهت دومن α3 کلاس I اندکی تغییر می‌کند. این ساختار اتصالی تنها با یک مولکول MHC متصل به CD8 می‌باشد و هیچ شاهدی مبنی بر احتمال اتصال کلاس I مولتی‌مر به مجموعه‌های CD8 مشاهده نشده است. داده‌های ساختاری نشان می‌دهند که شیوه اتصال CD4 به مولکول MHC-II نیز مشابه CD8می‌باشد. واکنش بین CD4 و MCH-II مستلزم تماس دوم دیستال غشایی CD4 با یک حفره آبگریز متشکل از بنیان‌های دومن‌های α2 و β2 MHC-II می‌باشد (شکل ۱۱-۹).

www.bbooks.ir



شکل ۱۱-۹: برهمکنش کمک پذیرنده ها با مولکول های TCR و MHC. (a) دیاگرام روبانی و ساختار سه بعدی مولکول HLA-A2 کلاس I متصل به هترودایمر CD8αα. (b) برهمکنش دومن خارج سلولی CD4 با مجموعه پپتید-MHC-II.

CD4 در نیتجه شناسایی مجموعه‌های پپتید MHC-II انتقال پیام و فعال‌سازی سلول‌های T را تسهیل می‌کند. وجود تفاوت بین نقش کمک‌پذیرنده‌های CD4 و CD8 هنوز به صورت فرضی بیان می‌شود. یادآوری می‌شود که علیرغم شباهت‌های ساختاری، ماهیت اتصال یک پپتید به مولکول‌های MHC کلاس I و II متفاوت می‌باشد چراکه مولکول کلاس I شیار بسته‌ای دارد که به یک پپتید کوچک با ویژگی بسیار بالا متصل می‌شود. داده‌های اخیر حاکی از آن است که زاویه‌ای که درآن، TCR به مجموعه پپتید-MHC دست می‌یابد، بین کلاس‌های I و II متفاوت می‌باشد. تفاوت‌ها در ایفای نقش کمک‌پذیرنده‌های CD4 و CD8 ممکن است در نتیجه این گونه تفاوت‌ها در اتصال باشد. همان‌طور که در فصل ۱۰ بیان شد، اتصال مولکول‌های CD4 و CD8 به انتقال پیام‌های کمک تحریکی سلول T کمک می‌کند. خصوصیات انتقال پیام هر دو CD4 و CD8 از طریق دومن‌های سیتوپلاسمی آنها میانجی‌گری می‌شود.

www.bbooks.ir

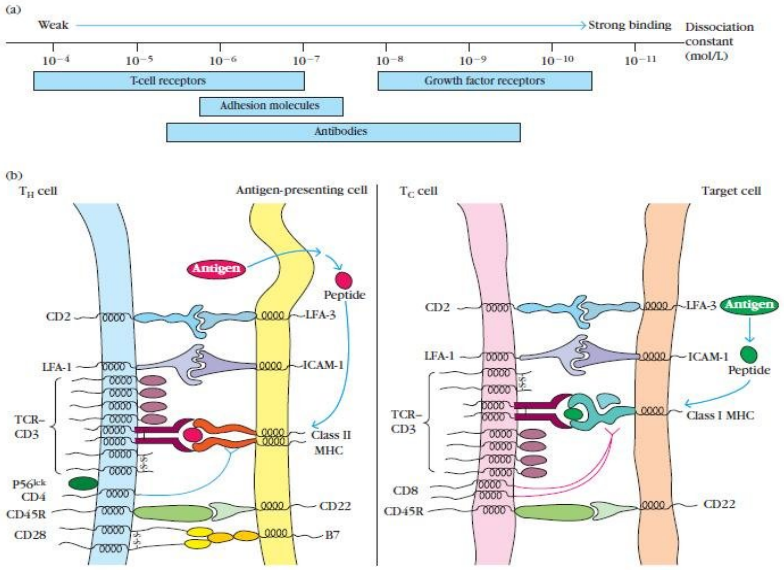
- میل پیوندی TCR به واسطه کمک پذیرنده‌ها افزایش یابد

میل پیوندی TCR برای مجموعه MHC – پپتید، کم یا متوسط بوده و میزان K_d از $۱۰^{-۴}$ تا $۱۰^{-۷}$ می‌باشد. این میزان میل پیوندی در مقایسه با واکنش‌های آنتی‌ژن – آنتی‌بادی ضعیف می‌باشد که عموماً میزان K_d آن حدود $۱۰^{-۶}$ تا $۱۰^{-۱۰}$ می‌باشد(شکل ۱۲-۹). به هر حال، برهمکنش‌های سلول T تنها به اتصال با TCR بستگی ندارد و مولکول‌های چسبان سلولی نیز اتصال بین سلول T و سلول عرضه کننده آنتی‌ژن یا سلول هدف را استحکام می‌بخشند. چندین مولکول کمکی غشایی نظیر CD2، LFA-1، CD28 و CD45R به طور مستقل به لیگاندهای دیگربر روی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن یا سلول‌های هدف متصل می‌شوند(جدول ۴-۹ و شکل ۱۲-۹).

TABLE 9-4 Selected T-cell accessory molecules

Name	Ligand	FUNCTION: Adhesion	FUNCTION: Signal transduction	Member of Ig superfamily
CD4	Class II MHC	+	+	+
CD8	Class I MHC	+	+	+
CD2 (LFA-2)	CD58 (LFA-3)	+	+	+
LFA-1 (CD11a/CD18)	ICAM-1 (CD54)	+	?	+/(–)
CD28	B7	?	+	+
CTLA-4	B7	?	+	–
CD45R	CD22	+	+	+
CD5	CD72	?	+	–

www.bbooks.ir



شکل ۱۲-۹: نقش کمک پذیرنده ها در میل پیوندی اتصال TCR. (a) ثابت تفکیک سیستم های زیستی مختلف. (b) دیاگرام شماتیکی از برهمکنش TCR و مجموعه پپتید-MHC و مولکول های کمکی مختلف با لیگاندهای آنها روی یک APC (چپ) و یک سلول هدف (راست).

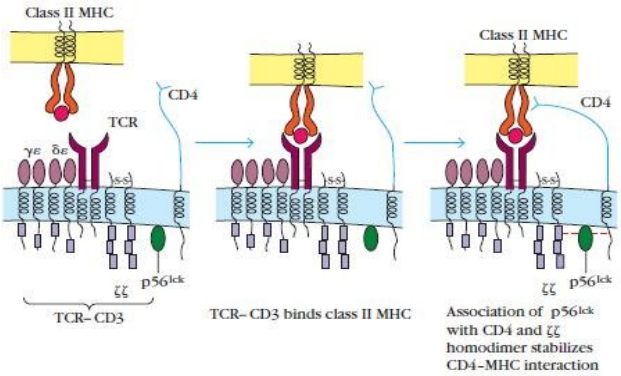
زمانی که تماس سلول به سلول از طریق مولکول‌های چسبان سلولی صورت می‌گیرد، پذیرنده سلول T می‌تواند مجموعه‌های پپتید-MHC را در غشا بررسی کند.

داده‌های اخیر در مورد برهمکنش بین بخش‌های خارج سلولی CD4 و مجموعه پپتید-MHC نشان می‌دهد که میل پیوندی بسیار ضعیفی بین آنها وجود دارد و در برخی آزمایشات، هیچ‌گونه اتصالی نشان داده نشده است(شکل ۱۱-۹). توضیح توجیه‌کننده برای این تفاوت در شکل ۱۳-۹ نشان داده شده است.

در این شکل یک برهمکنش چند مرحله‌ای بین CD4 و مجموعه TCR پیشنهاد می‌شود. این دیاگرام نشان می‌دهد که برهمکنش بین مجموعه TCR و مولکول CD4 با برهمکنش‌های دوگانه بین مولکول انتقال پیام p56LCK و هر دو CD4 و همودایمرζζ

www.bbooks.ir

مجموعه CD3 پایدار می‌گردد. همچنین پیشنهاد می‌گردد که CD4 بر روی غشای سلول T در فراخوانی مولکول‌های دخیل در انتقال پیام، نقش اساسی برعهده دارد.



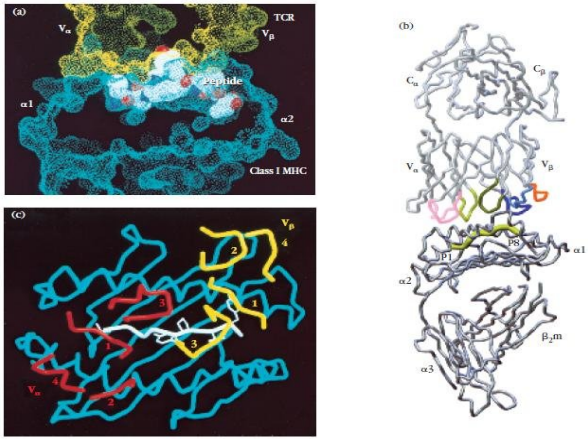
شکل ۱۳-۹: نقش CD4 در برهمکنش بین سلول T و APC به طور قابل توجهی با دو تماس افزایش می یابد که نه تنها مستلزم اتصال بخش های خارج سلولی CD4 و مولکول های MHC می باشد، بلکه نیازمند برهمکنش داخل سلولی CD4 و اتصال مولکول انتقال پیام $P56^{lck}$ با زنجیره ζ مجموعه CD3 نیز می باشد.

- ساختار سه بعدی مجموعه MHC- پپتید-TCR

برهمکنش بین TCR در یک آنتی‌ژن متصل به MHC در پاسخ‌های سلولی و هومورال به عنوان یک اصل می‌باشد. عناصر مولکولی این برهمکنش، امروزه به طور دقیق با بلورنگاری پرتو x مولکول‌های TCR متصل به پپتید همراه با مولکول‌های MHC توصیف شده است. ساختار سه بعدی این مجموعه سه مولکولی ابتدا توسط گاربوکزی و وایلی گزارش شد. این ساختار پایه شامل زنجیره‌های α و β TCR و یک مولکول HLA می‌باشد که به یک پپتید آنتی‌ژنی از رتروویروس انسانی HTLV-1 متصل شده‌است. مقایسه TCRمجموعه با هریک از مولکول‌های کلاس I یا II حاکی از وجود اختلاف در چگونگی تماس TCR با مجموعه

www.bbooks.ir

پپتید-MHC می‌باشد. این ساختارهای TCR به طور قابل توجهی با ساختارهای پذیرنده γδ متفاوت می‌باشد (شکل ۴-۹).



شکل ۱۴-۹: ساختارهای سه بعدی مجموعه پپتید-MHC-TCR. (a) مدل برهمکنش بین TCR انسانی (بالا) و مولکول HLA-A2 (پایین) با پپتید Tax از HTLV-1 (b) دیاگرامی از مجموعه سه گانه TCR موش متصل شونده به مولکول $H\text{-}2^{b/k}$ و پپتید CDR1, 2 دومن متغیر زنجیره TCRα و CDR1, 2 دومن متغیر زنجیره β و CDR3 نشان داده شده است. (c) تصویر مولکول MHC از بالا.

طبق آنالیز پرتو x ، مجموعه پپتد-αβTCR-MHC شامل یک مولکول TCR متصل به یک مولکول MHC و پپتید آن می‌باشد. TCR از طریق دومن‌های متیغیر خود با مولکول‌های MHC تماس پیدا می‌کند (شکل ۱۴-۹). با توجه به مولکول MHC و پپتید متصل به آن، می‌توان نتیجه گرفت که TCR نسبت به محور طولی پپتید به صورت مورب قرار گرفته است (شکل ۱۴-۹). حلقه‌های CDR3 زنجیره α و TCR β در مرکز این پپتید و حلقه CDR1 زنجیره TCRα در انتهای آمین این پپتید می‌باشد، در حالی که CDR1

www.bbooks.ir

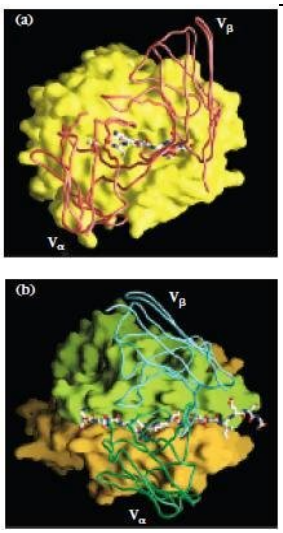
زنجیره β در انتهای کربوکسیل این پپتید واقع شده است. حلقه‌های CDR2 در تماس با مولکول MHC می‌باشند (شکل ۱۴-۹).

همان‌طور که در مورد ایمونوگلبولین‌ها پیش‌بینی شد، شناسایی مجموعه پپتید-MHC از طریق هر دو زنجیره αو β TCR صورت می‌گیرد که در تماس با پپتید و ناحیه بزرگی از مولکول MHC می‌باشند. این پپتید بیش از این که در معرض TCR باشد،اغلب به صورت عمقی در مولکول MHC پنهان می‌شود (شکل ۱۴-۹) و مولکول TCR در مولکول MHC جای می‌گیرد و از طریق یک سطح صاف، TCR با پپتید و MHC تماس می‌یابد. این واقعیت که ناحیه CDR1 با هر دو پپتید و MHC تماس می‌یابد نشان می‌دهد که نواحی دیگری به جز CDR3 در اتصال پپتید دخیل می‌باشند.

TCR- به طور متفاوتی با مولکول‌های کلاس I و II واکنش می‌دهد

آیا می‌توان از ساختار سه بعدی مجموعه‌های کلاس I – پپتید-TCR به برهمکنش‌های TCR با مولکول‌های کلاس II پی‌برد؟ راین‌هرز و همکارانش این سئوال را با آنالیز یک مولکول TCR در ترکیب با یک مولکول کلاس II موش و آنتی‌ژن اختصاصی آن، حل نمودند. اگر چه ساختارهای نواحی اتصال به پپتید در مولکول‌های کلاس I و II مشابه می‌باشند. مقایسه بر همکنش‌های یک TCR با پپتید-MHC-I و پپتید-MHC-II یک تفاوت با اهمیت در زاویه‌ای که مولکول TCR بر روی مجموعه‌های MHC قرار می‌گیرد را نشان می‌دهد (شکل ۱۵-۹). با توجه به این که بنیان‌های تماسی بین TCR و MHC-II بیش‌تر می‌باشند و با میل پیوندی بالاتری پایدار می‌گردند.

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۹: (a) مقایسه برهمکنش بین پپتید-αβTCR- MHC-I و (b) پپتید-αβTCR- MHC-II

- آلوراکتیویتی سلول‌های T

بخش‌های قبل بر روی نقش مولکول‌های MHC در عرضه آنتی‌ژن به سلول‌های T و برهمکنش TCRها با مجموعه‌های پپتید-MHC تأکید داشت. با این وجود، مولکول‌های MHC به علت نقششان در پس‌زدن بافت بیگانه زودتر شناخته شدند. واکنش‌های پس‌زدن پیوند، ناشی از شناسایی مولکول‌های MHC توسط سلول‌های T می‌باشد که به عنوان آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی عمل می‌کنند. اکثر افراد یک گونه به علت پلی‌مورفیسم بالای MHC، مجموعه منحصر به فردی از مولکول‌های MHC و یا آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی را داشته و به طور قابل توجهی آلوژنیک می‌باشند (فصل ۱۷). از این رو، سلول‌های T به طور مؤثری به آلوگرافت‌ها (پیوند اعضای یک‌گونه) پاسخ داده و مولکول‌های MHC به طور قابل توجهی آلوآنتی‌ژنیک می‌باشند. عموماً سلول‌های $CD4^+T$ به آلو آنتی‌ژن‌های کلاس II آلوراکتیو بوده و سلول‌های $CD8^+T$ به آلو آنتی‌ژن‌های کلاس I پاسخ می‌دهند.

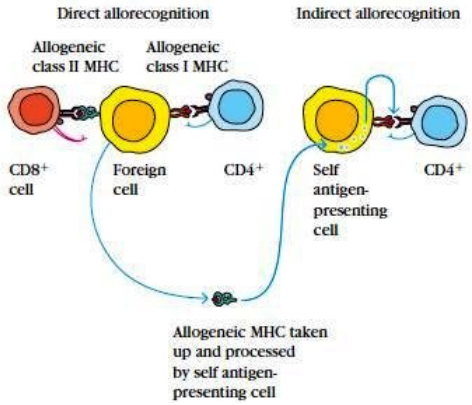
www.bbooks.ir

آلوراکتیویتی سلول‌های T به دو دلیل گمراه کننده می‌باشد. اول این که به نظر می‌رسد توانایی سلول‌های T در پاسخ به آنتی‌ژن‌های آلوژنیک سازگاری بافتی، متناقض با شواهدی است که نشان می‌دهد سلول‌های T تنها به آنتی‌ژن‌های بیگانه به همراه مولکول‌های MHC خودی پاسخ می‌دهند. با این حال، سلول‌هایT، پیوندهای آلوژنیک حاوی مولکول‌های MHC بیگانه را شناسایی می‌کنند. مسئله دوم مربوط به پاسخ سلول T به مولکول‌های MHC آلوژنیک می‌باشد به گونه‌ای که شمار سلول‌های T آلوراکتیو بسیار زیاد می‌باشد. تخمین زده می‌شود که ۵-۱٪ کل سلول‌های T با یک آلوآنتی‌ژن خاص واکنش می‌دهند که فراوانی طبیعی آنها از سلول‌هایT پاسخ دهنده به هر گونه پپتیدآنتی‌ژنی بیگانه به همراه MHCخودی بیشتر می‌باشد.

یک توضیح توجیه کننده و ممکن از لحاظ زیستی برای فراوانی بالای سلول‌هایT آلوراکتیو، این می‌باشد که بک TCR ویژه یک پپتید آنتی‌ژنی بیگانه همراه یک مولکول MHC خودی، می‌تواند با مولکول‌های MHC آلوژنیک خاصی واکنش دهد. به عبارت دیگر، در صورتی که یک مولکول MHC آلوژنیک با یک پپتید آلوژنیک همراه شود، یک نوع TCR می‌تواند هر دو مجموعه پپتید-MHC را شناسایی کند. از آنجایی که هر یک از سلول‌های آلوژنیک $۱۰^۵$ مولکول MHC-I عرضه می‌کند، سلول‌های T حامل گیرنده‌های با واکنش متقاطع و میل پیوندی پایین می‌توانند به آلوآنتی‌ژن غشایی (با تراکم بالا) اتصال برقرار کنند. اطلاعات مربوط به مکانیسم‌های اتصال TCR آلوراکتیو توسط رایسر و همکارانش به دست آمد. ولی ساختار یک TCR موش در مجموعه با یک مولکول کلاس I آلوژنیک حاوی یک اکتاپپتید را شناسایی کرد. این آنالیز ساختاری، شباهت ساختارهای گزارش شده را با اتصال TCR به مجموعه‌های MHC-I خودی آشکار ساخت و موجب شد تا این محقق اثبات کند که نحوه شناسایی آلوژنیک با شناسایی مولکول‌های MHC خودی تفاوتی ندارد.

www.bbooks.ir

شناسایی MHC بیگانه می‌تواند به صورت مستقیم یا به صورت غیر مستقیم (بدین صورت که سلول‌های T، MHC بیگانه را پس از پردازش، تجزیه و عرضه آن در اتصال با MHC خودی شناسایی می‌کند) باشد (شکل ۱۶-۹).



شکل ۱۶-۹: آلوراکتیویتی سلول های T موجب شناسایی مستقیم یا غیرمستقیم آلوآنتی ژن ها می شود. در مدل مستقیم، MHC غیرخودی در شکل طبیعی و دست نخورده شناسایی می شود. در مدل غیرمستقیم، پپتیدهای مشتق از مولکول MHC که پردازش شده و عرضه می شوند، در همراهی با مولکول های MHC خودی شناسایی می شوند.

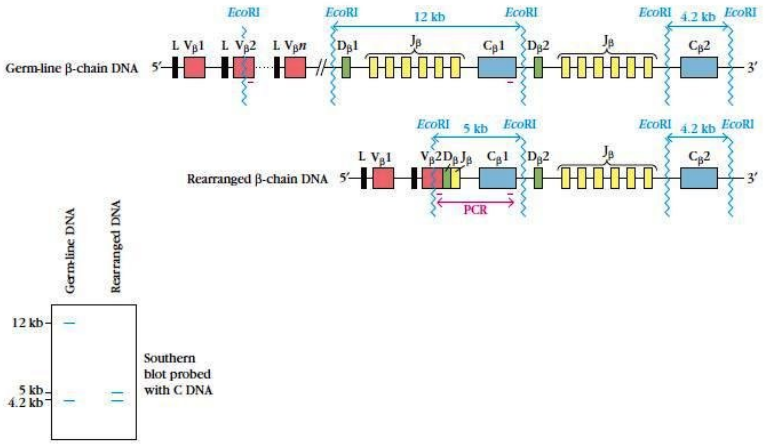
با توجه به این که سلول‌هایT میزبان، می‌توانند ساختارهای بسیاری را شناسایی کنند، دو اظهار نظر وجود دارد. در مدل غیر مستقیم، عدم گزینش منفی برای پپتیدهای حاصل از تجربه مولکول‌های MHC بیگانه، می‌تواند در فراوانی بالای سلول‌های T آلوراکتیو دخیل باشند. این شرایط، به همراه اختلاف در ساختار بخش‌های در معرض مولکول MHC آلوژنیک، ممکن است مسئول پدیده آلوراکتیویتی می‌باشد. یک توضیح دیگر برای شمار بسیار بالای سلول‌های T آلوراکتیو ممکن است وجود تعداد زیاد آنتی‌ژن‌های بالقوه باشد که در نتیجه مولکول MHC بیگانه به همراه آنتی‌ژن‌های پپتیدی حاصل شده باشد.

www.bbooks.ir

- تمرکز بالینی

- بازآرایی‌های سلول T به عنوان شاخص برای سلول‌های سرطانی

در سرطان‌های سلول T، تکثیر جمعیت کلونال سلول‌های T به صورت کنترل نشده صورت می‌گیرد. درمان موفقیت‌آمیز، مستلزم تشخیص سریع، دقیق و قطعی می باشد. زمانی که درمان شروع می‌گردد، جهت تعیین این که رژیم درمانی موفقیت‌آمیز می‌باشد یا خیر، تست‌های قابل اعتمادی باید انجام گیرد. در اصل، از آنجایی که سرطان‌های سلول‌های T ماهیت کلونال دارند، جمعیت سلول T سرطانی شده را می‌توان از روی عرضه مولکول‌های TCR شناسایی و کنترل کرد. شناسایی TCR ویژه کلون با یک آنتی‌بادی منوکلونال ویژه به ندرت عملی می‌باشد، چرا که مستلزم مهیا ساختن آنتی‌بادی اختصاصی ضد ناحیه متغیر بوده و بسیار دشوار می‌باشد. همچنین در همه سرطان‌ها نیز تنها یک مولکول TCR حضور ندارد که با این آنتی‌بادی قابل شناسایی باشد. ابزار دیگر برای شناخت یک کلون از سلول‌های T، DNA آنها می‌باشد. الگوی حاصل از بازآرایی ژن‌های TCR، یک شاخص منحصر به فرد را برای سلول‌های T سرطانی فراهم می‌آورد. از آنجایی که بازآرایی ژن‌های TCR در سلول‌های T، پیش از عرضه مولکول صورت می‌گیرد، سلول‌های T را می‌توان در مراحل اولیه تکوین شناسایی کرد.



www.bbooks.ir

الگوهای DNA که از بازآرایی این ژن‌ها در ناحیه TCRβ ناشی می‌شود را می‌توان به عنوان شاخص استفاده نمود. تقریباً ۷۰ قطعه ژنی Vβ وجود دارد که طی‌بازآرایی، با یکی از دو قطعه ژنی ناحیه D و متعاقب آن با یکی از ۱۴ قطعه ژن J متصل می‌شد (شکل ۶-۹ و ۸-۹). از آنجایی که هر یک از ژن‌های ناحیه V در کنار توالی‌های منحصر به فردی واقع شده‌اند، این فرآیند موجب ایجاد توالی‌های جدید DNA می‌شود که منحصر به سلول می‌باشند. این توالی جدید را می‌توان با روش‌های لکه‌گذاری ساترن و PCR شناسایی کرد. از آنجایی که توالی کامل ناحیه J،D و C ژن βTCR شناخته شده است، کاوشگرها و آنزیم‌های محدود کننده مناسبی جهت انجام روش‌های لکه‌گذاری ساترن مورد استفاده قرار می‌گیرند.

شناسایی DNA پذیرنده سلول T بازآرایی شده می‌تواند به عنوان یک ابزار تشخیصی در مواقع تورم غیر طبیعی و مزمن غدد لنفاوی مورد استفاده قرار گیرد. این شرایط ممکن است ناشی از التهاب در نتیجه عفونت مزمن یا در نتیجه تکثیر یک سلول لنفوئیدی سرطانی باشد. در موارد التهاب، این سلول‌ها از انواعی از کلون‌ها مشتق می‌شوند و DNA جدا شده از آنها، مخلوطی از توالی‌های متعدد و مختلف TCR می‌باشد، در این مورد هیچ قطعه منحصر به فردی شناسایی نمی‌شود. در صورتی که تورم غدد، مداوم باشد نشان‌دهندهٔ تکثیر کلونی می‌باشد. در این مورد، یک قطعه DNA غالب وجود دارد، چرا که همه سلول‌های سرطانی دارای توالی TCR DNA مشابه بوده و حاصل از بازآرایی DNA در سلول والد می‌باشند. بنابراین این سئوال که آیا تورم مذکور در نتیجه رشد سرطانی سلول‌های T می‌باشد یا خیر. با توجه به وجود یک قطعه ژنی خاص در DNA جمعیت سلولی ناهمگن پاسخ داده می‌شود. از آنجایی که ژن‌های Ig به شیوه‌ای مشابه با ژن‌های TCR بازآرایی می‌شوند، روش‌های مشابهی با استفاده از کاوشگرها جهت شناسایی جمعیت کلونی سلول B با الگوهای DNA منحصر به فرد آنها به کار گرفته می‌شود. از این رو این روش برای طیف وسیعی از سرطان‌های لنفوئید مفید می‌باشد.

www.bbooks.ir

اگر چه شناسایی یک قطعه منحصر به فرد DNA حاصل از ژن‌های بازآرایی شده TCR یا Ig، تکثیر و بدخیمی سلول‌های T و B را نشان می‌دهد ولی فقدان چنین قطعه‌ای، نشان‌دهنده نبود سرطان سلول‌های لنفوئیدی نمی‌باشد. سلولی که درگیر شده است ممکن است فاقد ژن‌های بازآرایی شده TCR یا Ig باشد و این امر را می‌توان با روش‌ها یا کاوشگرهای مورد استفاده تعیین نمود.

در صورتی که آزمایش و سایر معیارهای تشخیصی قطعه DNA نشان‌دهنده که بیمار سرطان سلول لنفوئید دارد، بایستی درمان مناسبی صورت گیرد. پایش موفقیت این درمان را می توان با استفاده از کاوشگر DNA ارزیابی کرد. در صورتی که رژیم‌درمانی موفقیت‌آمیز باشد، شمار سلول‌های سرطانی به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. در صورتی که شمار سلول‌های سرطانی به کمتر از ۲-۱٪ کل جمعیت سلول‌های T برسد، آنالیز با لکه‌گذاری ساترن دیگر قادر به شناسایی این قطعه منحصر به فرد نخواهد بود. در این مورد، می‌توان از یک روش حساس با نام PCR استفاده نمود. تکثیر و ایجاد نسخه‌های متعدد از یک توالی ویژه DNA در یک نمونه، با PCR امکان‌پذیر می‌باشد و پرایمرها را می‌توان به دو انتهای این توالی ویژه هیبرید نمود و یک نسخه از آن توسط پلیمراز به وجود آورد.

جهت شناسی بخشی از DNA بازآرایی شده TCR، یک قطعه از ناحیه V بازآرایی شده به صورت یک پرایمر تکثیر یافته و یک قطعه از ناحیه C زنجیره β به عنوان پرایمر دیگری تکثیر می‌یابد و یک قطعه DNA بازآرایی شده TCR حاصل می‌شود که اندازه و کیفیت آن برای شناسایی با الکتروفورز مناسب می‌باشد. اخیراً روش‌های کمّی PCR جهت کنترل بیمارانی که تحت رژیم درمانی می‌باشند مورد استفاده قرار می‌گیرند،تا با توجه به تعداد سلول‌های سرطانی به طور قطعی مورد ارزیابی قرار گیرند.

www.bbooks.ir

- خلاصه

- اکثر پذیرنده‌های سلول T با آنتی‌ژن محلول واکنش نداده بلکه با آنتی‌ژن پردازش شده و متصل به مولکول MHCخودی واکنش می‌دهند.
- TCRها برای اولین بار توسط آنتی‌بادی‌های منوکلونال کلونوتایپیک جداسازی شدند و هترودایمرهایی متشکل از یک زنجیره α و یک زنجیره β یا یک زنجیره γ و یک زنجیره δ می‌باشند. برخی از پذیرنده‌های δα،آنتی‌ژن‌ها را بدون پردازش و عرضه تولید توسط MHC شناسایی می‌کنند.
- زنجیره‌های TCR متصل به غشا در دومن‌های ثابت و متغیر سازمان‌دهی شده‌اند. دومن‌های TCR مشابه دومن‌های Ig بوده و ناحیه V دارای نواحی بسیار متغیر می‌باشند.
- DNA رده زایای TCR به صورت خانواده‌های چند ژنی با زنجیره‌هایα، β، γو δ سازمان یافته است. هریک از این خانواده‌ها چندین قطعه ژنی دارند.
- مکانیسم‌های ایجاد تنوع TCR عموماً مشابه با مکانیسم‌های ایجاد تنوع آنتی‌بادی می‌باشد، جز این که در ژن‌های TCR جهش سوماتیک صورت نمی‌گیرد.
- TCR کاملاً در ارتباط با CD3 می‌باشد. CD3 جهت عرضه سطحی TCR ضروری می‌باشد.
- سلول‌های T، مولکول‌های سطحی نظیر CD4، CD8، CD2، LAF-2، CD28 و CD45R را عرضه می‌کنند که در عملکرد سلول T یا انتقال پیام نقش کمکی ایفا می‌کنند.
- تشکیل مجموعه سه گانه MHC- آنتی‌ژن-R مستلزم اتصال یک پپتید به مولکول MHC و سپس اتصال مجموعه MHC- پپتید به TCR می‌باشد.
- برهمکنش بین TCR و پپتید-MHC از برهمکنش آن با پپتید-MHCII در نقاط تماس بین مولکول‌های MHC و TCR متفاوت می‌باشد.

www.bbooks.ir

- $\delta\gamma$TCR به واسطه توانایی آن در اتصال به آنتی‌ژن‌های اصلی از $\beta\alpha$TCR متمایز می‌شود.
- سلول‌های T علاوه بر واکنش با MHC خودی به همراه آنتی‌ژن‌های بیگانه، به مولکول‌های MHC بیگانه نیز پاسخ می‌دهند، این واکنش به پس‌زدن پیوندهای آلوژنیک منجر می‌شود.

- سئوالات درسی

۱- کدام یک از جملات زیر درست و کدام نادرست می‌باشد. در صورتی که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

الف) آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی CD4 ، همزمان BCR را با CD4 رسوب می‌دهد.

ب) دورگه‌سازی حذفی را می‌توان برای غنی‌سازی mRNA(که در یک نوع سلول وجود داشته و در سلول دیگری وجود ندارد) استفاده کرد.

پ) آنتی‌بادی منوکلونال کلونوتایپیک برای جداسازی TCR استفاده شده است.

ت) سلول T مجموعه مشابهی از قطعات ژنی D، V و J را همانند سلول B استفاده می‌کند، اما قطعات ژنی C متفاوتی را به کار می‌برد.

ث) $\beta\alpha$TCR دو ظرفیتی بوده و دو جایگاه اتصال به آنتی‌ژن دارد.

ج) هر یک از سلول‌های $\alpha\beta$T تنها یک آلل زنجیره β و یک آلل زنجیره α را عرضه می‌کنند.

چ) هترودایمر Igα/Igβ و CD3 عملکردهای مشابهی به ترتیب در BCR و TCRدارند.

۲- چرا زینکرناگل و دوهرت استنباط کردند که شناسایی به واسطه TCR مستلزم هر دو آنتی‌ژن و مولکول‌های MHCمی‌باشد؟

www.bbooks.ir

۳- ساختار پایه TCRرا رسم کرده و آن را با ساختار پایه ایمونوگلبولین مقایسه کنید.

۴- مولکول های غشایی متعددی علاوه بر TCR در شناسایی آنتی‌ژن و فعال‌سازی سلول T دخیل می‌باشند. ویژگی‌ها و عملکردهای متفاوت مولکول‌های غشایی سلولT را شرح دهید

الف)CD3 ب) CD4

پ) CD8 ت)CD2

۵- نشان دهید کدام یک از ویژگی‌های زیر مربوط به TCR، کدام یک مربوط به Ig سلول B بوده و کدام یک شامل هر دو می‌باشد: به ترتیب به صورت TCR، Ig و (TCR/Ig) نشان دهید.

الف) در اتصال با CD3 می‌باشد.

ب) یک ظرفیتی است

پ) به اشکال ترشحی و غشایی وجود دارد.

ت) دارای دومن‌هایی با ساختار چین ایمونوگلبولین می‌باشد.

ث) محدود به MHC می‌باشد.

ج) تنوع ناشی از اتصال نادرست قطعات ژنی را نشان می‌دهد.

چ) تنوع ناشی از جهت سوماتیک را نشان می‌دهد.

۶- هدریک و دیویس از روش‌های دورگه‌سازی حذفی برای جداسازی کلون‌هایی از cDNAاستفاده کردند که این کلون‌ها TCR را کد می‌کنند. شما می‌خواهید از این روش برای جداسازی cDNA که چند محصول ژنی را کد می‌کند و دارای کلون هایی از انواع مختلف سلول‌ها می‌باشد به عنوان منبع cDNA یا mRNA برای

www.bbooks.ir

دورگه‌سازی استفاده کنید. برای هر محصول ژنی که در ستون چپ جدول زیر فهرست شده است مناسب‌ترین گزینه را انتخاب کنید.

دودمان سلول TH1 (A) ، دودمان سلول TH2 (B) ، دودمان سلول Tc (C)، ماکروفاژ (D)، سلول میلومای ترشح کننده IgA (E)، سلول میلومای ترشح کننده IgG (F)، پیش‌ساز میلوئیدی (G)، دودمان سلول B (H).

۷- موش‌های با سویه‌های درون‌زای مختلف در ستون چپ جدول زیر با ویروس LCM آلوده شده‌اند. سلول‌های مشتق شده از طحال این موش‌های آلوده شده با LCM به منظور تعیین توانایی آنها در لیز سلول‌های هـدف نشاندار با Cr^{51} و آلوده با LCM سویه‌های فهرست شده در بالای جدول، بررسی شدند. با علامت (+) و (-) نشان دهید که آیا انتظار دارید که Cr^{51} از سلول‌های هدف رها شوند یا خیر.

Gene product	cDNA source	mRNA source
IL-2		
CD8		
J chain		
IL-1		
CD3		

۸- δγTCR در پارامترهای ساختاری و عملکردی با βαTCR تفاوت دارد. توضیح دهید از چه لحاظ این پذیرنده‌ها با یکدیگر مشابه بوده و با پذیرنده‌های آنتی‌ژن سلول T متفاوت می‌باشند.

Source of spleen cells from LCM-infected mice	Release of ^{51}Cr from LCM-infected target cells			
	B10.D2 (H-2^d)	B10 (H-2^b)	B10.BR (H-2^k)	(BALB/c × B10) F_1 (H-$2^{b/d}$)
B10.D2 (H-2^d)				
B10 (H-2^b)				
BALB/c (H-2^d)				
BALB/b (H-2^b)				

www.bbooks.ir

۹- بخش قابل توجهی از سلول‌های T آلوراکتیو می‌باشند. توضیح دهید چگونه از ۲۰ سلول T ، یکی می‌تواند با آلوگرافت‌ها واکنش دهد.

۱۰- یک محقق ناشناس یک ساختار سه بعدی برای یک مولکول TCR در مجموعه با آنتی‌ژن طراحی کرد. این محقق بدون افشای هیچ اطلاعاتی ناگهان از آزمایشگاه ناپدید شد ولی یک ساختار کاملاً واضح را به جای گذاشت. کدام یک از اشکال این ساختار می‌تواند به شما کمک کند تا شناسایی کنید که کدام نوع TCR بوده است؟

۱۱- موش های ژن تخریب شده زنجیره TCR α نسبت به موش‌های ژن تخریب شده زنجیره CD3 ζ بیشتر رشد می‌کنند. می‌توانید توضیح دهید چرا؟

۱۲- مکانیسم‌های ایجاد تنوع در TCR βα و BCR را با هم مقایسه کنید. در پاسخ خود هر دو زیرواحد این پذیرنده‌ها را توضیح دهید.

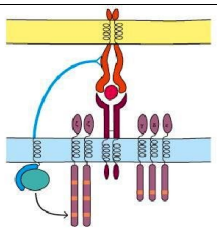
www.bbooks.ir

فصل دهم

بلوغ، فعال شدن و تمایز سلول T

- بلوغ سلول‌های T و تیموس
- گزینش تیموس و گنجینه سلول T
- فعال شدن سلول T
- تمایز سلول T
- جمعیت‌های سلول T و مرگ سلولی

www.bbooks.ir



- تیموس و بلوغ سلول T

پیش‌ساز سلول‌های T در مراحل اولیه خونسازی، در حدود روز یازدهم حاملگی در موش و هفته هشتم یا نهم حاملگی در انسان، شروع به مهاجرت به تیموس می‌کنند. مشابه بلوغ سلول B در مغز استخوان، بلوغ سلول T مستلزم بازآرایی ژن‌های TCR رده زایا و عرضه شاخص‌های غشایی مختلف می‌باشد. در تیموس، سلول‌های T(**تیموسیت‌ها**[1]) در طول مسیرهای تکوین، تکثیر و تمایز می‌یابند و در نهایت دو زیر جمعیت عملکردی مجزا از سلول‌های T بالغ را به وجود می‌آورند.

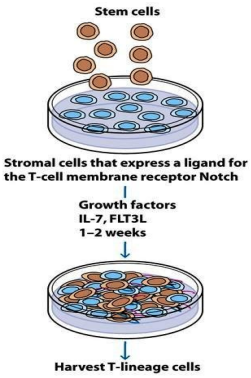
همان‌طور که در فصل ۲ نشان داده شده، تیموس، نقش اساسی در زیست شناختی سلول T دارد. علاوه بر این که تیموس منبع اصلی تمام سلول‌های T می‌باشد. تنوع سلول‌های T و تشکیل گنجینه سلول‌های T اجرایی نیز در آنجا صورت می‌گیرد. **گزینش مثبت**[2]، تنها به سلول‌های T که TCR آنها قادر به شناسایی مولکول‌های MHC خودی می‌باشند، امکان بقا می‌دهد. بنابراین، این مرحله مسئول ایجاد گنجینه سلول‌های T محدود به MHC خودی می‌باشد. مرحله دیگر گزینش، یعنی **گزینش منفی**[3]، سلول‌های T که با قدرت بالا به MHC خودی واکنش می‌دهند را حذف می‌کند. گزینش منفی، یکی از عوامل مهم در ایجاد یک گنجینه سلول‌های T اولیه است که به خودی تحمل دارند.

تکوین سلول T، با رسیدن شمار اندکی از پیش‌سازهای لنفوئیدی مهاجر از خون به تیموس آغاز می‌شود. این سلول‌ها در تیموس تکثیر و تمایز یافته و تحت مراحل گزینش، به

1- thymocytes
2- positive selection
3- negative selection

www.bbooks.ir

سلول‌های T بالغ تکوین می‌یابند. در سال ۲۰۰۲ زونیگاپفلوکر[1] و همکارانش نشان دادند که تکوین سلول‌های T را می‌توان با کشت سلول‌های بنیادی مغز استخوان روی روده سلول‌های استرومایی دارای لیگاند ویژه پذیرنده‌های غشایی Notch القا نمود. تکوین سلول‌های T نیازمند انتقال پیام با واسطه Notch می‌باشد و عدم بلوغ سلول‌های T اولیه که ژن‌های Notch آنها تخریب شده بود، شاهدی براین مدعاست. رشد سلول‌های بنیادی خونساز (HSC) روی سلول‌های استرومایی که لیگاند Notch را عرضه می‌کنند، منجر به تکوین این سلول‌های بنیادی به رده T می‌شود (شکل ۱-۱۰).

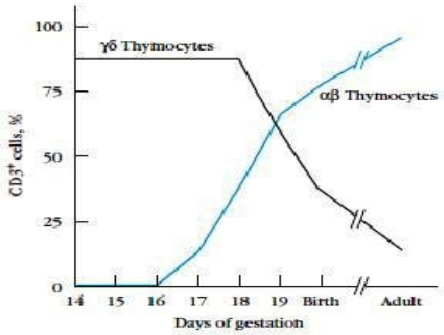


شکل ۱-۱۰: تکوین سلول های T از سلول های بنیادی خونساز و سلول های استرومایی مغز استخوان که لیگاند Notch را عرضه می کنند.

همان‌طور که شکل ۲-۱۰ نشان می‌دهد، هنگام رسیدن پیش‌سازهای سلول T به تیموس، شاخص‌های سطحی همچون TCR، مجموعه CD3 یا کمک‌پذیرنده‌های CD4 و CD8را عرضه نمی‌کنند.

1- J.C.Zuniga-Pfluker

www.bbooks.ir



شکل مروری ۲-۱۰: تکوین سلول های T در موش.

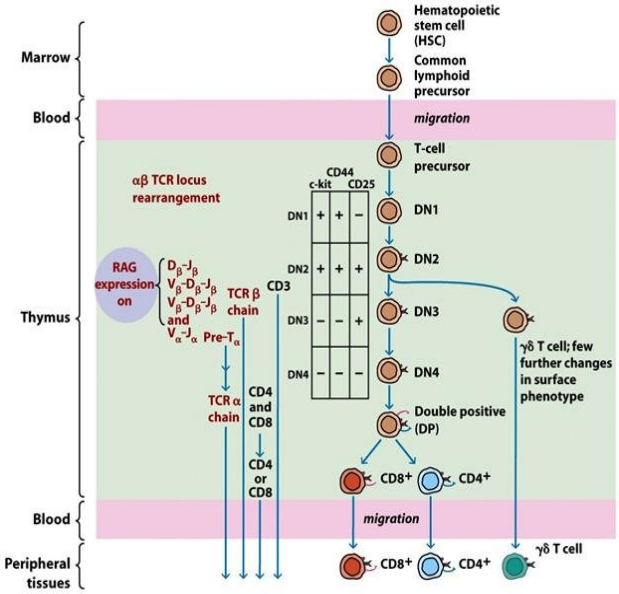
در حقیقت هنوز این سلول‌های پیش‌ساز، ژن‌های TCR خود را بازآرایی نکرده و پروتئین‌هایی مانند RAG-1 و RAG-2 که برای این بازآرایی ضروری می‌باشند را عرضه نمی‌کنند. پس از رسیدن به تیموس، پیش‌سازهای T وارد کورتکس خارجی شده و به کندی تکثیر می‌یابند. در طی تکوین سه‌هفته‌ای آنها در تیموس، سلول‌های T با عبور از یک‌سری مراحل که با تغییر خصوصیات ظاهری آنها مشخص‌می‌شود،تمایز می‌یابند. به دلیل این که این سلول‌ها $CD8^-$ $CD4^-$ می‌باشند، به آنها **سلول‌های دوگانه منفی**[1] (DN) می‌گویند. در حقیقت، سلول‌های DN T را می‌توان براساس حضور یا عدم حضور مولکول‌های سطحی c-Kit، CD44 و CD25 به چهار زیر مجموعه (DN1-4) تقسیم نمود.

سلول‌هایی که وارد تیموس می‌شوند (DN1) قادرند به همه زیر مجموعه‌های سلول T تمایز یافته و از نظر ظاهری،c-Kit+، CD44high و CD25- می‌باشند. زمانی که سلول‌های DN1 وارد تیموس می‌شوند، شروع به تکثیر و عرضه cD25 کرده و تبدیل به c-Kit+، CD44low، CD25+ (DN2) می‌گردند. در این مرحله، سلول‌های Tبازآرایی ژن‌های زنجیره‌های γ، β و TCRα آغاز می‌شود. با این حال، احتمالاً به دلیل تراکم DNA حاوی ژن‌های α، این جایگاه برای تشکیلات نوترکیبی قابل دسترس نبوده و بازآرایی نمی‌شود.

1- double negative (DN)

www.bbooks.ir

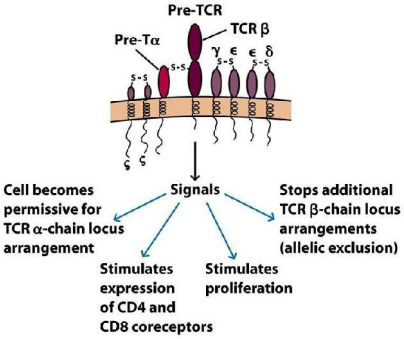
عرضه c-Kit و CD44 در مرحلـه DN3 متوقـف شـده و بـازآرایی γ، β، TCRα افـزایش می‌یابد. درصد کمی از سلول‌ها، جهت ساخت سلول‌های γδT از حالـت گـذر میـان DN2 و DN3 مشتق شده و به سلول‌های γδT بالغ تبدیل می‌شوند(شکل ۳-۱۰).



شکل ۳-۱۰: محدوده زمانی پیدایش تیموسیت های γδ و تیموسیت های αβ در طی تکوین جنین موش. این گراف نشان می دهد که درصدی از سلول های $CD3^+$ در تیموس، دوگانه منفی می باشند و γδTCR را حمل می کنند و یا دوگانه مثبت می باشند که αβTCR را حمل می کنند.

بیشتر سلول‌های DN2، متعهد به تولید سلول‌های αβT مـی‌شـوند و فنوتیـپ DN3 (c-Kit^-، $CD25^+$ و $CD44^-$) را کسب می‌کنند؛ تکثیر آنها متوقف شده و پروتیئن‌های حاصل از بازآرایی βTCR در سیتوپلاسم آنها قابل شناسایی است. زنجیـره‌هـای β بـا گلیکـوپروتئین ۳۳KDa تحت عنوان زنجیره Pre-Tα ترکیـب شـده و بـا مجموعـه CD3 بـرای تشـکیل مجموعه Pre-TCR ترکیب می‌شوند (شکل ۴-۱۰).

www.bbooks.ir



شکل ۴-۱۰: ساختار و فعالیت پذیرنده pre-T.

پروتئین Notch در این مرحله از تکامل، نقش مهمی برعهده دارد. سلول‌هایی که Notch را عرضه نمی‌کنند، از این مرحله بلوغ عبور نخواهند کرد.

تشکیل Pre-TCR، مسیرهای انتقال پیامی را فعال می‌کند که چندین پیامد دارد:

- نشان‌دهنده بازآرایی موفق زنجیره TCRβ و پیامی جهت تکثیر و بلوغ می‌باشد.
- مهار بازآرایی بیشتر ژن‌های زنجیره TCRβ، که منجر به حذف آللی می‌شود.
- امکان بازآرایی زنجیره TCRα را برای سلول فراهم می‌نماید.
- سبب تحریک تکوین بیشتر به سمت حالت دوگانه مثبت[1] ($CD4^+CD8^+$) می‌شود.

در موش‌ها، ژن‌های زنجیره TCRα تا قبل از روز شانزدهم یا هفدهم حاملگی عرضه نمی‌شوند؛ سلول‌های دوگانه مثبت عرضه کننده CD3 و پذیرنده αβ در روز هفدهم شروع به ظاهر شدن می‌کنند و در زمان تولد به حداکثر تعداد خود می‌رسند(شکل ۳-۱۰).

تیموسیت‌های DP، دارای TCR کامل بوده و تحت گزینش مثبت و منفی قرار می‌گیرند.

تکوین سلول T یک فرآیند پرهزینه برای میزان می‌باشد. در حدود ۹۸ درصد تیموسیت‌ها به بلوغ نمی‌رسند؛ این سلول‌ها در تیموس به دلیل شکست در تولید ژن TCR بازآرایی شده کارآمد و یا به دلیل شکست در گزینش‌های تیموس بواسطه مرگ

1- double positive (DP)

www.bbooks.ir

برنامه‌ریزی شده می‌میرند. تیموسیت‌های DP که مجموعه αβTCR-CD3 را عرضه کرده و در نتیجه گزینش تیموس زنده می‌مانند. به تیموسیت‌های یگانه مثبت $CD4^+$[1] یا تیموسیت‌های یگانه مثبت $CD8^+$[2] نابالغ، تکوین می‌یابند.

- گزینش تیموس و گنجینه سلول T

بازآرایی تصادفی ژن‌ها در DNA رده زایای TCR، با تنوع اتصالی می‌تواند گنجینه بزرگی از TCRها (با تنوع بیش از $۱۰^{۱۵}$ برای پذیرنده αβ و $۱۰^{۱۸}$ نوع برای پذیرنده γδ) تولید کند. محصولات ژنی حاصل از ژن‌های بازآرایی شده TCR، به صورت تئوری بایستی قادر به شناخت آنتی‌ژن‌های محلول، مولکوهای MHC خودی یا مولکول MHC غیر خودی همراه با آنتی‌ژن باشند. با این حال، خصوصیت بارز سلول‌های T بالغ این است که تنها آنتی‌ژن‌های بیگانه همراه با مولکول‌های MHC خودی را شناسایی میکنند.

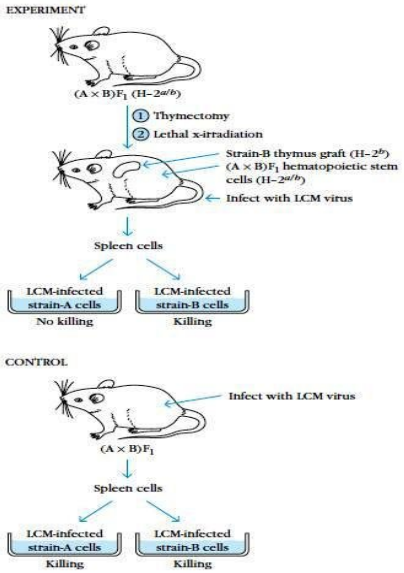
- **گزینش مثبت**: پذیرنده‌های با قابلیت اتصال به مولکول‌های MHC خودی را انتخاب می‌کند که پیامد آن محدودیت به MHC خودی[3] می‌باشد. سلول‌هایی که گزینش نمی‌شوند طی مرگ برنامه‌ریزی شده، در تیموس حذف می‌شوند.
- **گزینش منفی**: تیموسیت‌های دارای پذیرنده با میل پیوندی بالا برای مولکول‌های MHC خودی به تنهایی یا MHC خودی همراه با آنتی‌ژن خودی را حذف می‌کند که پیامد آن، **تحمل به خود**[4] می‌باشد.

هر دو فرآیند برای تولید سلول‌های T بالغ محدود به MHC خودی و تحمل به خود ضروری می‌باشند. ۹۸درصد تیموسیت‌ها در تیموس به دلیل مرگ برنامه‌ریزی شده می‌میرند. درصد بسیاری از این نرخ بالای مرگ مربوط به تیموسیت‌هایی است که به دلیل

1- single positive CD4+
2- single positive CD8+
3- MHC restriction
4- self- tolerance

www.bbooks.ir

عدم شناخت اختصاصی مولکول‌های MHC خودی، در گزینش مثبت می‌میرند. این سلول‌ها، تحریک‌های رشد را دریافت نکرده و طی فرآیندی با نام مرگ در اثر بی‌توجهی[1] می‌میرند. شواهد اولیه مبنی بر نقش تیموس در گزینش گنجینه سلول‌های T از آزمایش بر روی موش‌های کایمرک که توسط زینکرناگال و همکارانش انجام شد، بدست آمد (شکل ۵-۱۰).



شکل ۵-۱۰: اثبات آزمایشگاهی این که تیموس جهت بلوغ سلول های T ضروری می باشد و پذیرنده های این سلول ها آنتی ژن عرضه شده بر روی سلول های هدف با هاپلوتایپ تیموس را شناسایی می کنند.

این محققان، تیموس نوع B را به موش‌های نسل اول (A×B) فاقد تیموس و اشعه دیده، پیوند زدند و سپس سیستم ایمنی این حیوانات را با تزریق داخل وریدی سلول‌های مغز استخوان نسل اول دوباره بازسازی کردند. برای اطمینان از این که تیموس پیوند شده حاوی سلول‌های T بالغ نباشند، قبل از پیوند آن را تحت تأثیر اشعه قرار دارند. در یک چنین سیستم تجربی، پیش‌سازهای سلول T مغز استخوان پیوندی نسل اول در تیموس بالغ

1- death by neglect

www.bbooks.ir

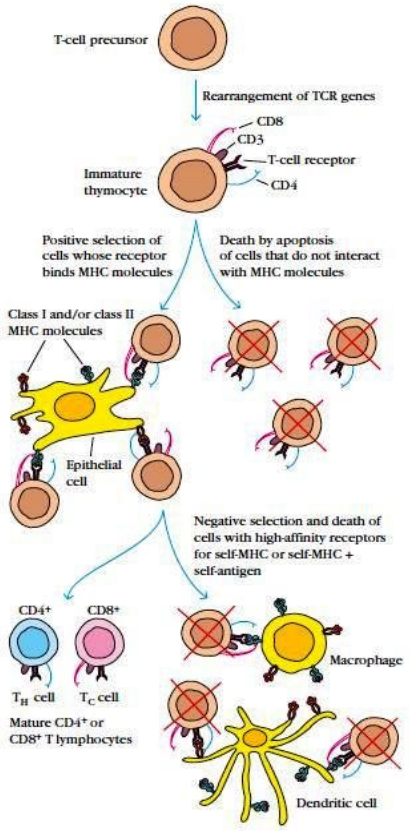
می‌شوند. آیا این سلول‌های T نسل اول، محدود به MHCهای هاپلوتایپ تیموس می‌باشند؟ برای پاسخ به این سئوال، موش‌های کایمریک با ویروس LCM آلوده شده و سلول‌های T طحال آنها به منظور توانایی کشتار سلول‌های هدف آلوده به LCMV موش‌های سویه A یا B مورد بررسی قرار گرفت. وقتی سلول‌های Tc موش‌های کایمریک روی سلول‌های هدف موش‌های سویه A یا B آزموده شدند، آنها توانستند سلول‌های هدف آلوده به LCMV موش‌های سویه B را بکشند. این موش‌ها هاپلوتایپ مشابه با تیموس پیوند شده (B) داشتند (شکل ۵-۱۰) بنابراین، هاپلوتایپ MHC تیموس، تعیین کننده محدودیت به MHC در طول تکوین سلول‌های T می‌باشد.

- گزینش مثبت، تضمین کننده محدودیت به MHC می‌باشد

گزینش مثبت، در ناحیه کورتکس تیموس صورت می‌گیرد و شامل واکنش تیموسیت‌های نابالغ با سلول‌های اپی‌تلیال کورتکس می‌باشد (شکل ۶-۱۰). شواهد نشان می‌دهد که TCR روی تیموسیت‌ها، در محل اتصال (سلول- سلول) تمایل به تجمع با مولکول‌های MHC روی سلول‌های ناحیه کورتکس را دارند. برخی محققان پیشنهاد کرده‌اند که این واکنش‌ها به تیموسیت‌های نابالغ امکان می‌دهند تا یک پیام محافظت‌کننده را که مانع از مرگ سلولی می‌شود، دریافت کنند. سلول‌هایی که پذیرنده‌های آنها قادر به اتصال به مولکول‌های MHC نباشند، نمی‌توانند با سلول‌های اپی‌تلیال تیموس واکنش دهند و در نتیجه پیام محافظت کننده را دریافت نکرده و متحمل مرگ توسط آپوپتوز می‌شوند. در طی گزینش مثبت، بیان پروتئین‌های RAG-1، RAG-2 و TdT که برای بازآرایی مورد نیازند، از سرگرفته می‌شوند (شکل ۷-۵). بنابراین هر کدام از تیموسیت‌های نابالغ یک کلون، با زنجیره β معین، برای بازآرایی متفاوت ژن‌های زنجیره TCRα فرصت دارند و سپس TCRهای حاصله برای تشخیص MHC خودی گزینش می‌شوند، تنها سلول‌های حاوی هتروداپمرαβTCR درمیان اعضای یک کلون بسیار مهم است زیرا سبب افزایش احتمال این امر می‌شود که برخی

www.bbooks.ir

اعضا بتوانند گزینش مثبت را پشت‌سر بگذراند. سلولی کـه زنجیـره α را بـازآرایی نمایـد و سبب تولید αβTCR شود که MHC خودی را بشناسد، زنده مانده و سایر اعضای کلون که در این امر شکست بخورند از طریق مرگ برنامه‌ریزی شده طی ۳ تا ۴ روز می‌میرند.



شکل ۶-۱۰: گزینش مثبت و منفی تیموسیت ها در تیموس.

www.bbooks.ir

- گزینش منفی، تضمین کننده تحمل به خود می‌باشد

جمعیتی از تیموسیت‌های محدود به MHC که طی گزینش مثبت زنده مانده‌اند، دارای پذیرنده‌هایی با محدوده میل پیوندی کم تا زیاد برای آنتی‌ژن خودی عرضه شده توسط مولکول‌های MHC می‌باشند. تیموسیت‌های دارای پذیرنده‌های با میل پیوندی بالا طی گزینش منفی‌حذف می‌شوند. در طی گزینش منفی، سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژهای حاوی مولکول‌های MHC کلاس I و II با تیموسیت حاوی پذیرنده با میل پیوندی بالا برای آنتی‌ژن‌های خودی همراه با مولکول‌های MHC خودی یا تنها با مولکول‌های MHC خودی واکنش می‌دهند (شکل ۶-۱۰).

عناصر اساسی در گزینش مثبت و منفی، توسط چندین آزمایش آشکار شد. شواهد مبنی براین که گزینش مثبت در تیموس نیازمند اتصال تیموسیت‌ها به مولکول‌های MHC کلاس I و II می‌باشد، طی بررسی‌های تجربی بر روی موش‌های ژن تخریب شده که قادر به تولید مولکول‌های MHC کلاس I و II عملکردی نبودند بدست آمده است(جدول ۱-۱۰).

TABLE 10-1 Effect of class I or II MHC deficiency on thymocyte populations*

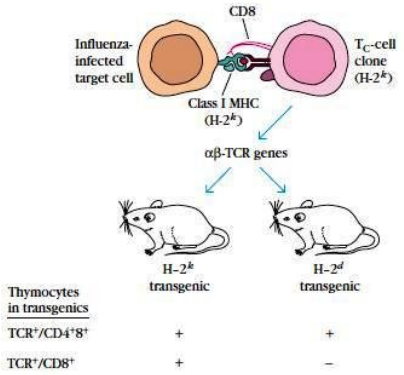
Cell type	Control mice	KNOCKOUT MICE: Class I deficient	KNOCKOUT MICE: Class II deficient
$CD4^-CD8^-$	+	+	+
$CD4^+CD8^+$	+	+	+
$CD4^+$	+	+	−
$CD8^+$	+	−	+

*Plus sign indicates normal distribution of indicated cell types in thymus. Minus sign indicates absence of cell type.

عدم حضور مولکول‌های MHC کلاس I یا II به ترتیب مانع از گزینش مثبت سلول‌های $CD8^+T$ و $CD4^+$ می‌شوند. آزمایش با موش‌های ترانس ژنیک، شواهد بیشتری در مورد نقش مولکول‌های MHC در گزینش مثبت آشکار نمود. دراین آزمایش‌ها، ژن‌های بازآرایی شده αβTCR مشتق از کلون‌های سلول $CD8^+T$ ویژه آنتی‌ژن آنفولانزا همراه با

www.bbooks.ir

مولکول‌های MHC-I ($H-2^k$) به داخل تخم بارور دوسویه متفاوت موش (یکی دارای هاپلوتایپ $H-2^k$ و دیگری $H-2^d$) تزریق شدند (شکل ۷-۱۰).



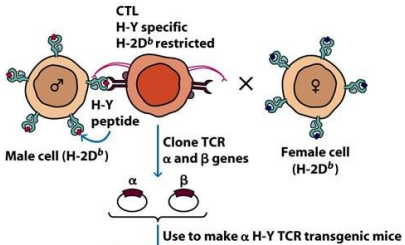
شکل ۷-۱۰: اثر هاپلوتایپ میزبان بر روی بلوغ سلول T در موش های حامل ترانس ژن های کدکننده یک TCR محدود به $H-2^b$ MHC-I ویژه ویروس آنفولانزا.

از آنجایی که ژن پذیرنده انتقال یافته قبلاً بازآرایی شده‌بود، بازآرایی سایر ژن‌های TCR در این موش‌های ترانس ژنیک مهار شده بود. بنابراین درصد بالایی از تیموسیت‌های این موش‌های ترانس ژنیک، پذیرنده‌های T کد شده توسط ژن انتقال یافته را عرضه می‌کردند.

شواهد مبنی بر حذف تیموسیت‌های واکنش‌دهنده با آنتی‌ژن‌های خودی همراه مولکول‌های MHC، از بررسی چند سیستم تجربی به دست آمده است. در یک سیستم، بلوغ تیموسیت‌ها در موش‌های ترانس ژنیک دارای ژن انتقال یافته αβTCR اختصاصی مولکول MHC-I (D^d) به همراه آنتی‌ژن H-Y (پروتئین کوچکی که توسط کروموزوم Y کد می‌شود) بررسی شده بود. در این آزمایش، هاپلوتایپ موش‌های ترانس ژنیک، از نوع $H-2^d$ بود، بنابراین تفاوت میان گزینش تیموسیت‌ها در موش‌های ترانس ژنیک نرو ماده متناسب با حضور یا عدم حضور آنتی‌ژن H-Y خواهد بود.

www.bbooks.ir

آنالیز تیموسیت‌ها در موش‌های ترانس ژنیک آشکار نمود که موش‌های ماده دارای تیموسیت‌های عرضه کننده TCR ویژه H-Y می‌باشند، در صورتی که نرها فاقد این گونه تیموسیت‌ها هستند (شکل ۸-۱۰).



	Male H-2D^b	Female H-2D^b
H-Y expression	+	−
Thymocytes		
CD4$^-$8$^-$	++	+
CD4$^+$8$^+$	+	++
CD4$^+$	+	+
CD8$^+$	−	++

شکل ۸-۱۰: اثبات آزمایشگاهی این که گزینش منفی تیموسیت ها مستلزم آنتی ژن و MHC خودی می باشد. در این آزمایش ترانس ژن های ماده و نر H-2^b تولید می شوند که حامل ترانس ژن های TCR ویژه آنتی ژن H-Y به علاوه مولکول D^b می باشند. این آنتی ژن تنها در موش های نر عرضه می شود. آنالیز FACS این موش های ترانس ژن نشان می دهد که سلول های CD8$^+$T بالغ ترانس ژنی را که در موش های نر وجود ندارد را عرضه می کنند. این حاکی از آن می باشد که تیموسیت ها با یک آنتی ژن خودی واکنش داده و طی گزینش تیموسی حذف می شوند.

به عبارت دیگر، تیموسیت‌های واکنشگر با H-Y در موش‌های نر، خود واکنشگر محسوب شده و حذف می‌گردند. با این حال، درموش‌های ترانس ژنیک ماده، که آنتی‌ژن H-Y را عرضه نمی‌کردند، این سلول‌ها، خود واکنشگر نبوده و بنابراین حذف نشده بودند. وقتی تیموسیت‌های این موش‌های نر ترانس ژنیک در آزمایشگاه در مجاورت سلول‌های عرضه کننده H-Y کشت داده شوند، تیموسیت‌ها تحت مرگ برنامه‌ریزی شده قرار گرفتند که شاهد قوی مبنی بر گزینش منفی می‌باشد.

www.bbooks.ir

- مباحث بسیاری در گزینش تیموس، حل نشده باقی مانده‌اند

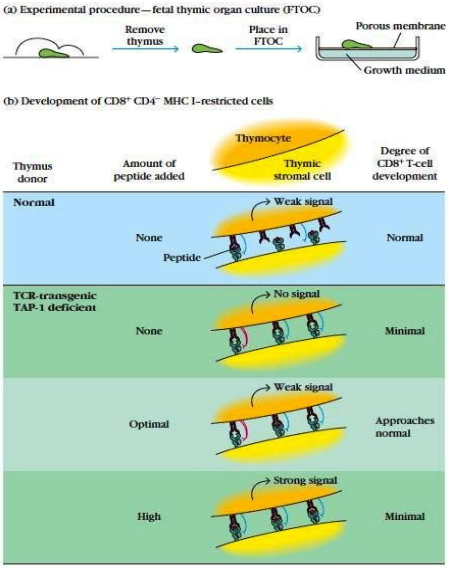
اگر چه مباحث بسیاری درمورد مراحل تکوین سلول‌های $CD4^+$ و $CD8^+$ شناخته شده است ولی مباحث حل‌نشده‌ای باقی مانده‌است. یکی از مشهورترین آنها تناقض زیر می‌باشد: اگر گزینش مثبت تنها به تیموسیت‌هایی اجازه به زنده‌ماندن دهد که با مولکول‌های MHC خودی واکنش می‌دهند و گزینش منفی نیز تیموسیت‌های خودواکنشگر را حذف کند، پس به هیچ سلولی اجازه بلوغ داده نخواهد شد. از آنجایی که نتیجه تکوین سلول Tبه اینجا ختم نمی‌شود، واضح است که عوامل دیگری مانع از حذف کل گنجینه سلول‌های T محدود به MHC می‌شوند.

شواهد تجربی به دست آمده از کشت اندام تیموس جنینی (FTOC) در حل این مسئله بسیار مفید بوده است. در این سیستم، لوب‌های تیموس موش را در روز شانزدهم حاملگی بریده و در محیط کشت قرار می‌دهند. در این زمان، لوب‌ها به طور غالب حاوی تیموسیت‌های نابالغ دوگانه منفی در کشت اندام به تکوین خود ادامه داده و می‌توان مراحل گزینش آنها را بررسی نمود. این روش به طور اختصاصی در موش‌های فاقد ژن TAP-1 به کار گرفته شد. در غیاب TAP-1 تنها میزان اندکی از MHC-I روی سلول‌های تیموس عرضه می‌شود و تکوین تیموسیت‌های $CD8^+$ مهار می‌گردد. با این حال، وقتی که پپتیدهای خارجی به کشت اندام اضافه می‌شوند، مولکول‌های MHC-I حامل پپتید، روی سطح سلول‌های تیموس نمایان می‌شوند و تکوین سلول‌های $CD8^+T$ از سرگرفته می‌شود.

دو نظریه برای توضیح تناقض گزینش‌های مثبت و منفی وابسته به MHC وجود دارد. نظریه میل پیوندی تام و نظریه پیام تمایزی.

فرضیه میل پیوندی تام، با موش‌های فاقد ژن TAP-1 که حاوی ترانس ژن‌های αβTCR ویژه مجموعه پپتید-MHC (ویروس LCM) بودند، آزمون شدند. از این موش‌ها برای آماده‌سازی کشت اندام تیموس جنینی استفاده شد (شکل ۹-۱۰).

www.bbooks.ir



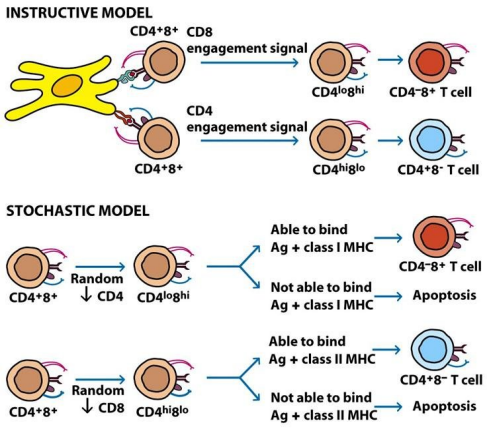
شکل ۹-۱۰: نقش پپتیدها در روند گزینش.

میل پیوندی تام واکنش MHC-TCR با استفاده از غلظت‌های متفاوت پپتید، متنوع گردید. در غلظت‌های کم پپتید، مولکول‌های MHC متصل به پپتید اندک بودند و میل پیوندی تام واکنش TCR-MHC پایین بود. همان‌طور که غلظت پپتید -MHC افزایش می‌یافت، تعداد مجموعه‌های پپتید -MHC نیز افزایش می‌یافت و در نتیجه آن میل پیوندی تام واکنش نیز بیشتر می‌شد. مدل پیام تمایزی، تعریف دیگری را برای تعیین گزینش مثبت و منفی سلول T بیان می‌کند. این مدل بیشتر کیفی است تا کمی و بیشتر روی ماهیت پیام منتقل شده توسط TCR تأکید دارد تا قدرت پیام. اساس این مدل، از مشاهده مجموعه‌های ایمنی به دست آمده است که برخی می‌توانند یک پیام فعال‌سازی ضعیف را منتقل کنند، در حالی که سایرین می‌توانند پیام‌های کامل را منتقل کنند. در این مدل، گزینش مثبت زمانی صورت می‌گیرد که TCRتیموسیت‌ها، در برخورد با مجموعه‌های MHC- پپتید، پیام‌های ضعیفی را انتقال دهند و گزینش منفی زمانی اتفاق می‌افتد که پیام کامل انتقال یابد.

www.bbooks.ir

میزان عرضه کمک پذیرنده CD8 نیز می‌تواند روی گزینش تیموس تأثیر بگذارد. در یک آزمایش که میزان عرضه CD8 به طور مصنوعی به دو برابر حالت طبیعی افزایش یافته بود، شمار سلول‌های $CD8^{+}T$ بالغ در تیموس به $\frac{1}{13}$ مقدار طبیعی کاهش یافت،که ممکن است به دلیل افزایش عرضهCD8، میزان میل پیوندی تام تیموسیت‌ها به MHC-I نیز افزایش یافته باشد و امکان گزینش منفی آنها بیشتر شده باشد.

سئوال بدون جواب دیگر در گزینش تیموس، این است که چطور تیموسیت‌های DP مستقیماً به سلول‌های $CD4^{-}\ CD8^{+}T$ یا $CD4^{+}\ CD8^{-}$ تبدیل می‌شوند. گزینش تیموسیت‌های DP، منجر به تولید سلول‌های $CD8^{+}T$ محدود به MHC-I و سلول‌های $CD4^{+}T$ محدود به MHC-II می‌شود. دو مدل برای توضیح تغییر شکل پیش‌سازهای DP به یکی از دو جمعیت DP پیشنهاد شده است (شکل ۱۰-۱۰).



شکل ۱۰-۱۰: مدل های پیشنهادی از نقش کمک پذیرنده های CD4 و CD8 در گزینش تیموسیت های دوگانه مثبت که موجب ایجاد سلول های T یگانه مثبت می شوند. طبق این مدل فرضی، واکنش یک کمک پذیرنده با مولکول های MHC بر روی سلول های استرومایی موجب تنظیم کاهشی کمک پذیرنده دیگر می شود.

www.bbooks.ir

مدل آموزشی، تصور می‌شود که واکنش های متعدد میان TCR، CD8، CD4 و مولکول‌های MHC کلاس I و II به سلول‌های می‌آموزد که به سلول‌های یگانه مثبت $CD4^+$ یا $CD8^+$ تمایز یابند. مدل تصادفی، پیشنهاد می‌کند که عرضه CD4 یا CD8 به طور تصادفی بدون ارتباط با TCR اختصاصی متوقف می‌شود.

- فعال شدن سلول T

فعال شدن سلولT با واکنش میان مجموعه TCR-CD3 و پپتید پردازش شده و متصل به یکی از مولکول‌های MHC-I (سلول‌های $CD8^+$) یا کلاس II (سلول‌های $CD4^+$)آغاز می‌شود. این فرآیند نیازمند حضور مولکول‌های کمکی مختلف روی غشای سلول‌های T و APC می‌باشد. بسیاری از محصولات ژنی که در اثر واکنش با Ag ایجاد می‌شوند را می‌توان در یکی از سه گروه زیر طبقه‌بندی کرد(جدول ۲-۱۰):

TABLE 10-2 Time course of gene expression by T_H cells following interaction with antigen

Gene product	Function	Time mRNA expression begins	Location	Ratio of activated to nonactivated cells
		IMMEDIATE		
c-Fos	Protooncogene; nuclear-binding protein	15 min	Nucleus	> 100
c-Jun	Cellular oncogene; transcription factor	15–20 min	Nucleus	?
NFAT	Transcription factor	20 min	Nucleus	50
c-Myc	Cellular oncogene	30 min	Nucleus	20
NF-κB	Transcription factor	30 min	Nucleus	> 10
		EARLY		
IFN-γ	Cytokine	30 min	Secreted	> 100
IL-2	Cytokine	45 min	Secreted	> 1000
Insulin receptor	Hormone receptor	1 h	Cell membrane	3
IL-3	Cytokine	1–2 h	Secreted	> 100
TGF-β	Cytokine	< 2 h	Secreted	> 10
IL-2 receptor (p55)	Cytokine receptor	2 h	Cell membrane	> 50
TNF-β	Cytokine	1–3 h	Secreted	> 100
Cyclin	Cell-cycle protein	4–6 h	Cytoplasmic	> 10
IL-4	Cytokine	< 6 h	Secreted	> 100
IL-5	Cytokine	< 6 h	Secreted	> 100
IL-6	Cytokine	< 6 h	Secreted	> 100
c-Myb	Protooncogene	16 h	Nucleus	100
GM-CSF	Cytokine	20 h	Secreted	?
		LATE		
HLA-DR	Class II MHC molecule	3–5 days	Cell membrane	10
VLA-4	Adhesion molecule	4 days	Cell membrane	> 100
VLA-1, VLA-2, VLA-3, VLA-5	Adhesion molecules	7–14 days	Cell membrane	> 100, ?, ?, ?

SOURCE: Adapted from G. Crabtree, *Science* **243**:357.

www.bbooks.ir

- **ژن‌های فوری**، طی نیم‌ساعت پس از شناسایی آنتی‌ژن بیان می‌شوند و تعدادی از عوامل رونویسی مثل c-Fos، c-Myc، c-Jun- NFAT و NF-KB را کد می‌کنند.
- **ژن‌های ابتدایی**، در طی ۱ تا ۲ ساعت پس از شناسایی Ag بیان می‌شوند و IL-2، IL-2R، IL-3، IL-6، IFN-γ را کد می‌کنند.
- **ژن‌های تأخیری**، در طی بیش از ۲ روز پس از شناسایی آنتی‌ژن بیان شده و مولکول‌های چسبان مختلفی را کد می‌کنند.

- با درگیری TCR، مسیرهای متعدد انتقال پیام به راه می‌افتد

- انتقال پیام با واکنش بین لیگاند و پذیرنده آغاز می‌شود.
- بسیاری از مسیرهای انتقال پیام با تجمع برخی از اجزای مسیر همراه می‌باشد که توسط لیگاند تحریک می‌شود. این امر توسط پروتئین‌های تطابقی صورت می‌گیرد.
- دریافت پیام، معمولاً منجر به ایجاد پیامبر ثانویه[1] داخل سلولی می‌شود.
- پروتئین کنیازها و پروتئین فسفاتازها، فعال یا مهار می‌شوند.
- پیام‌ها توسط آبشارهای آنزیمی تقویت می‌شوند.

وقایعی که شناسایی آنتی‌ژن را به فعال شدن ژن‌ها مرتبط می‌سازد، بازتابی از عملکرد این روندها می‌باشد. عنصر کلیدی در آغاز فعالیت سلول‌های T، شناخت مجموعه پپتید-MHC توسط TCR می‌باشد. این رویداد منجر به تسهیل یک‌سری از وقایع داخل سلولی می‌شود که از سطح داخلی غشای پلاسمایی شروع شده و به هسته می‌رسند و در آنجا منجر به نسخه‌برداری از ژن‌هایی می‌شوند که موجب تمایز سلول T می‌گردند.

TCR از یک واحد متصل شونده به لیگاند، یک واحد انتقال دهنده پیام داخل سلولی، مجموعه CD3 و همودایمری از زنجیره‌های ζ (zeta) تشکیل شده و تمام این اجزا جهت

1- second massenger

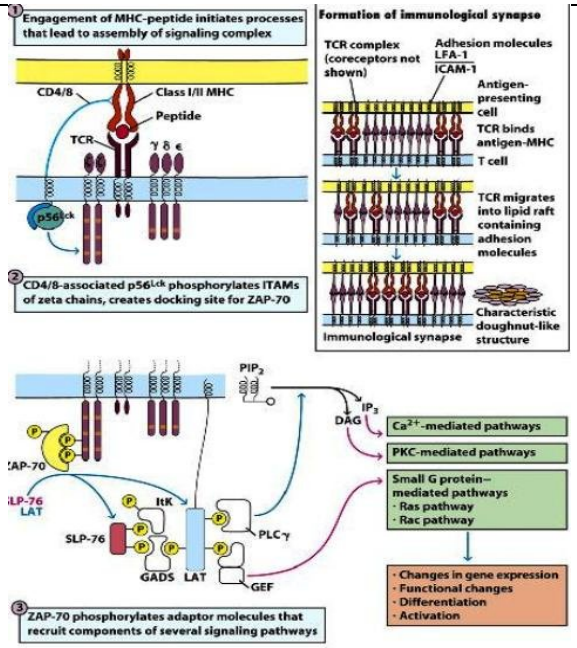
www.bbooks.ir

انتقال پیام ضروری می‌باشند. در پاسخ سلول T دو مرحله آغاز و ایجاد پیام قابل شناسایی است.

- **مرحله آغاز**: در سلول T در حالت استراحت، $p56^{LCK}$ یک پروتئین تیروزین کیناز ضروری برای آغاز انتقال پیام TCR بوده و جدا از مجموعه TCR می‌باشد. معمولاً $p56^{LCK}$کیناز در لیپید raft یافت می‌شود. لیپید raft ناحیه‌ای از غشا می‌باشد که غنی از اسنفگومیلین، گلیکواسفنگولیپید و کلسترول می‌باشد. مجموعه TCR که به آنتی‌ژن اتصال نیافته، خارج از این حوزه نگه داشته می‌شود. درگیری TCR با MHC-پپتید، منجر به تجمع مجموعه TCR با لیپید raft شده و به دنبال آن، پذیرنده‌های CD4 و CD8 به ناحیه نامتغیر مولکول MHC متصل می‌شوند (شکل ۱۱-۱۰). تیروزین کیناز $p56^{LCK}$ که در حالت استراحت سلول به دنباله‌های سیتوپلاسمی کمک پذیرنده‌ها متصل می‌باشد، به دنباله‌های سیتوپلاسمی مجموعه TCR نزدیک شده و تیروزین‌های موجود در پلی‌لیپیدهای CD3 را فسفریله می‌کند. تیروزین‌های فسفریله شده در ITAM زنجیره زتا، تکیه‌گاهی را برای پروتئین تیروزین کیناز دیگری به نام ZAP-70 فراهم می‌کنند (شکل ۱۱-۱۰) که پس از اتصال، فعال می‌شود.

ZAP-70 فسفریلاسیون پروتئین‌های تطابقی همراه غشای Van-1، Shc، LAT و SLP-76 (شکل ۱۱-۱۰) را کاتالیز می‌کند. این پروتئین‌ها داربستی برای فراخوانی مولکول‌های واسطه فراهم می‌آورند. یکی از این مسیرها، با واسطه PLCγ صورت می‌گیرد که به یک مولکول تطابقی متصل می‌باشد. این مولکول با فسفریلاسیون، فعال شده و فسفولیپیدهای غشایی را جهت تولید پیامبرهای ثانویه هیدرولیز می‌کند.

www.bbooks.ir



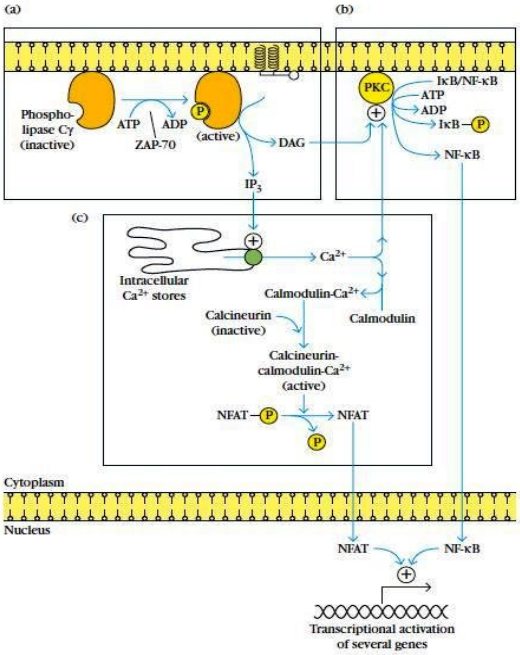
شکل مروری ۱۱-۱۰: پیام رسانی از طریق TCR

- **ایجاد پیام‌های داخل سلولی متعدد**: بسیاری از مسیرهای انتقال پیام به دنبال مرحله آغازین، فعال می‌شوند. یکی از جنبه‌های برجسته فارآغازین انتقال پیام TCR، تشکیل ساختمان فرامولکولی با نام سیناپس ایمنی[1] (IS) می‌باشد. تصور می‌شود که ورود TCR به لیپید raft برای تشکیل IS ضروری باشد. ناحیه مرکزی IS غنی از مجموعه‌های TCR/CD3 و پروتئین‌های انتقال پیام داخل سلولی می‌باشد. در حالی که قسمت خارجی به صورت حلقه، دور قسمت مرکزی را فراگرفته و حاوی مولکول‌هایی همچون LFA-1 می‌باشد (شکل ۱۱-۱۰).

1- immunological synapse

www.bbooks.ir

فسفولیپاز C (PLCγ): این آنزیم با فسفریلاسیون فعال شده و با اتصال به پروتئین تطابقی همراه غشای LAT که متصل به کیناز قابل القای سلول T(ItK) می‌باشد، به سوبسترای خود دسترسی پیدا می‌کند (شکل ۱۲-۱۰).



شکل ۱۲-۱۰: مسیرهای انتقال پیام مربوط به فعال شدن سلول T. (a) فسفولیپاز C_γ با فسفریلاسیون فعال می شود. PLCγ فعال یک جزء فسفولیپید غشای سلولی را هیدرولیز کرده و دو پیامبر ثانویه دیگر (DAG و IP_3) را به وجود می آورد. (b) پروتئین کیناز C با DAG و Ca^{2+} فعال می شود. از جمله فعالیت های PKC فعالسازی IKK می باشد که IKB را فسفریله می کند. فسفریلاسیون IKB موجب رها شدن NFκB و انتقال آن به هسته می شود. (c) فعال شدن وابسته به کلسیم کلسی نورین. کلسی نورین یک فسفاتاز وابسته به Ca^{2+}/ کالمودولین می باشد. کلسی نورین فعال موجب حذف یک گروه فسفات از NFAT می شود که امکان انتقال این عامل رونویسی به هسته را فراهم می کند.

PLCγ، فسفواینوزیتول بیس فسفات که یکی از فسفولیپیدهای غشایی می‌باشد را هیدرولیز کرده و IP_3 و دی‌آسیل‌گلیسرول (DAG) را تولید می‌کند. IP_3 باعث رهایی سریع Ca^{2+}

www.bbooks.ir

از شبکه اندوپلاسمی شده و کانال‌های Ca^{2+} غشایی را باز می‌کند (شکل ۱۲-۱۰). DAG، پروتئین کنیاز C را فعال می‌کند.

Ca^2: یون کلسیم در محدوده وسیعی از مراحل زیستی مانند بینایی، انقباض عضلات و غیره دخالت دارد. Ca^{2+} یکی از عناصر ضروری در پاسخ‌های سلول T بوده و در نهایت منجر به فسفریلاسیون عوامل نسخه‌برداری مهمی مانند NFAT می‌شود؛ NFAT موجب نسخه‌برداری از ژن سایتوکاین‌های افزایش دهنده رشد سلول T (IL-4, IL-2) می‌شود.

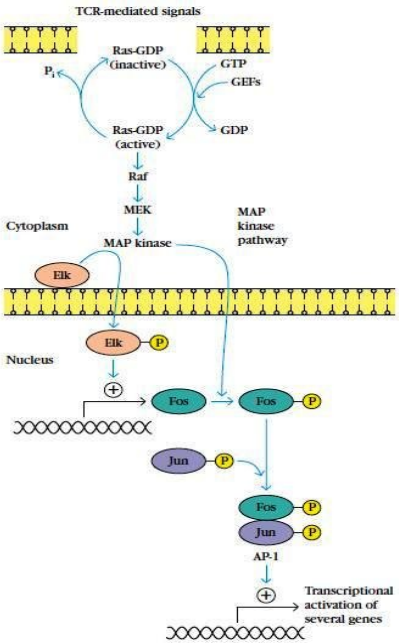
پروتئین کیناز C (PKC): DAG ایجاد شده توسط PLCγ منجر به فعال شدن PKC می‌گردد. فعال شدن PKC منجر به انتقال آن به داخل لیپید raft می‌شود و در آنجا این آنزیم، آبشاری از وقایع که منجر به فعال‌سازی NF-KB می‌شود را، به راه می‌اندازد(شکل ۱۲-۱۰).

فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-κB): یکی از عوامل نسخه‌برداری می‌باشد که توسط پیام‌های مختلف در انواع بسیاری از سلول‌ها القا می‌گردد. فعال شدن PKC توسط PLCγ منجر به اجتماع مجموعه‌ای از پروتئین‌های متصل شونده به غشا مثل CARMA-1، BCL-10 و MALT-1 می‌شود. این مجموعه سبب فعال شدن آنزیم چند پروتئینی به نام IKK می‌گردد. IKK، مهار کننده κB را فسفریله می‌کند(شکل ۱۲-۱۰). IκB به طور طبیعی به NF-κB متصل بوده و آن را در سیتو پلاسم نگه‌می‌دارد، اما فسفوریلاسیون IκB توسط IKK منجر به رها شدن NF-κB و مهاجرت آن به هسته می‌گردد. یکی از اهداف اصلی NF-κB، ژن IL-2 می‌باشد.

مسیر Ras/MAP کیناز: Ras یکی از اجزای مهم مسیرهای انتقال پیام بوده و طی تکامل یوکاربوت‌ها از مخمرتا انسان به صورت حفاظت شده باقی مانده است. Ras، پروتئین G کوچکی است که فعال شدن آن توسط GTP، سبب به راه‌افتادن آبشاری از پروتئین کینازها تحت عنوان مسیر پروتئین کیناز فعال شونده توسط میتوژن (MAPکیناز) می‌شود.

www.bbooks.ir

فسفوریلاسیون محصول نهایی این آبشار (MAP کیناز یا ERK) موجب فعال شدن آن به ELK می‌شود (شکل ۱۳-۱۰).



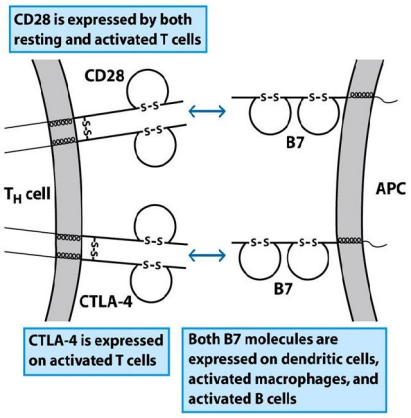
شکل ۱۳-۱۰: فعال شدن G پروتئین ک.چک Ras. پیام رسانی ناشی از TCR ها، از طریق عوامل تبادلی گوانین (GEFs) موجب فعال شدن Ras و کاتالیز تبادل GDP به GTP می گردد. Ras فعال موجب راه اندازی آبشاری از واکنش ها و افزایش تولید عامل رونویسی Fos می شود. به دنبال فسفریلاسیون Fos و Jun، این عوامل دایمریزه شده و عامل رونویسی AP-1 حاصل می شود.

- پیام‌های کمک تحریکی، جهت فعال شدن کامل سلول T ضروری می‌باشند

فعال شدن سلول T نیازمند واکنشی پویا بین چندین مولکول همراه غشا می‌باشد، اما این واکنش‌ها به خودی خود برای فعال شدن کامل سلول‌های Tدست نخورده کافی نمی‌باشند. سلول‌های T دست‌نخورده به بیش از یک پیام نیاز دارند تا فعال شده، تکثیر یابند و سپس به سلول‌های اجرایی تبدیل شوند:

www.bbooks.ir

پیام ۱ (آغازین) که توسط واکنش میان پپتید آنتی‌ژنی با مجموعه TCR-CD3 ایجاد می‌شود. متعاقب آن، پیام ۲ که عمدتاً بوسیله واکنش میان CD28 سلول Tو اعضای خانواده B7 سلول عرضه کننده آنتی‌ژن صورت می‌گیرد (شکل ۱۴-۱۰).



شکل ۱۴-۱۰: فعال شدن سلول های T_H مستلزم یک پیام کمک تحریکی می باشد که توسط سلول های عرضه کننده آنتی ژن ایجاد می گردد.

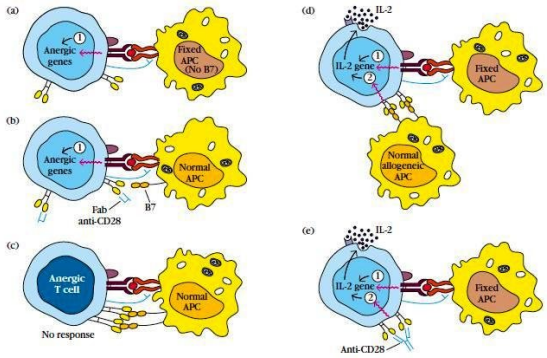
CD28 و CTLA-4 لیگاندهای مولکول‌های B7 می‌باشند که هر دو، روی غشای سلول T عرضه می‌شوند. اگرچه CD28 و CTLA-4 از لحاظ ساختاری گلیکوپروتئین‌های شبیه هم می‌باشند ولی عملکرد آنتاگونیستی دارند. پیام حاصل از CTLA-4 مهاری بوده و سبب کاهش تنظیمی فعالیت سلول T می‌شود. CD28روی سلول‌های T در حال استراحت و سلول‌های T فعال عرضه می‌شود، اما CTLA-4 روی سلول‌های درحال استراحت قابل شناسایی نمی‌باشد. معمولاً درگیری TCR سبب القای عرضه CTLA-4 می‌شود و CTLA-4 به سرعت پس ازگذشت ۲۴ ساعت از زمان تحریک، قابل شناسایی شده و عرضه آن طی ۲ تا ۳ روز پس از تحریک، به حداکثر میزان خود می‌رسد. با وجودی که حداکثر میزان CTLA-4 غشایی از CD28 کمتر است، هنوز هم می‌تواند به طور مطلوبی در اتصال به B7 رقابت کند و این امر به دلیل میل پیوندی بالاتر این مولکول نسبت به CD28 می‌باشد.

www.bbooks.ir

- در غیاب پیام‌های کمک تحریکی، آنرژی کلونال صورت می گیرد

شناسایی مجموعه پپتید -MHC توسط سلول T، اغلب منجر به عدم پاسخ‌دهی یا آنـرژی کلونی می‌گردد که از خصوصیات آن، عدم تکثیر سلول می‌باشـد. آیـا گسـترش کلـونی یـا آنرژی کلونی، به حضور یا عدم حضور پیام‌های کمک تحریکی بستگی دارد؟

آزمایش کشت سلول‌ها نشان می‌دهد که اگر یک سلول T در حال استراحت پیـامی را بـا واسطه TCR دریافت کند و این پیام در غیاب پیام کمک تحریکی مناسب باشـد، سـلول T آنرژیک خواهد شد؛ به خصوص اگـر سـلول‌هـای T بـه همـراه APCهـای ثابـت شـده بـا گلوتارآلدئید کشت داده شوند(شکل ۱۵-۱۰). APCهای ثابـت شـده قادرنـد پپتیـد را بـه همراه مولکول‌های MHC-II عرضه کنند. در نتیجه، پیام ۱ را تولید می‌کنند ولی آنهـا قـادر به تولید پیام ۲ نمی‌باشند. در غیاب پیام کمک تحریکـی، میـزان تولیـد سـایتوکاین‌هـا (بـه خصوص IL-2) بسیار ناچیز خواهد بود. همچنین، مجاورت سلول‌های T با APCهای طبیعی در حضور بخش Fab آنتی‌بادی ضد CD28 نیز می‌تواند سبب ایجاد آنـرژی گـردد (شـکل ۱۵-۱۰).



شکل ۱۵-۱۰: اثبات آزمایشگاهی آنرژی کلونی در مقابل گسترش کلونی.

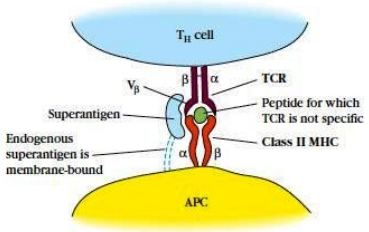
دو آزمایش کنترل مختلف نیز اثبات نمود که APCهای ثابت شده حامل مجموعـه‌هـای پپتید-MHC مناسب، می‌تواننـد پیـام مـؤثری را بـه واسـطه TCR انتقـال دهنـد. در یـک

www.bbooks.ir

آزمایش، سلول‌های Tهمزمان با هر دو APCهای ثابت شده حاوی مجموعه‌های MHC-پپتید ویژه TCR و همچنین با APCهای طبیعی عرضه کننده B7 انکوبه شدند(شکل ۱۵-۱۰). APCهای ثابت شده موجب درگیری TCR سلول‌های T شده و مولکول‌های B7 عرضه شده روی سطح APCهای طبیعی نیز سبب اتصال متقاطع CD28 سلول T شدند. بنابراین این سلول‌هایTهر دو پیام را دریافت کرده و در نتیجه فعال شدند. اضافه کردن آنتی‌بادی دو ظرفیتی ضد CD28 به مخلوط APCهای ثابت شده و سلول‌های T نیز پیام کمک تحریکی مؤثری را به وجود می‌آورد (شکل ۱۵-۱۰).

- اتصال همزمان TCR و MHC-II توسط سوپرآنتی‌ژن‌هاموجب فعال شدن سلول T می‌گردد

سوپر آنتی‌ژن‌ها، پروتئین‌های ویروسی یا باکتریایی هستند که همزمان به دومن V_β پذیرنده سلول T و زنجیره α مولکول MHC-II متصل می‌شوند. سوپر آنتی‌ژن‌ها با منشأ خارجی[1] و داخلی[2] شناسایی شده‌اند (شکل ۱۶-۱۰).



شکل ۱۶-۱۰: اتصال متقاطع وابسته به سوپر آنتی ژن پذیرنده سلول T و مولکول های MHC-II.

سوپرآنتی‌ژن‌های اگزوژن: پروتئین‌های محلولی می‌باشند که توسط باکتری‌ها ترشح می‌شوند. از میان آنها می‌توان به انواع مختلف اگزوتوکسین‌های ترشح شده توسط

1- exogenous
2- endogenous

www.bbooks.ir

باکتری‌های گرم مثبت مثل انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی، توکسین سندرم شوک توکسیک و توکسین اگزوفولیاتیو اشاره نمود (جدول ۳-۱۰).

TABLE 10-3 Exogenous superantigens and their V_β specificity

Superantigen	Disease*	V_β SPECIFICITY: Mouse	V_β SPECIFICITY: Human
Staphylococcal enterotoxins			
SEA	Food poisoning	1, 3, 10, 11, 12, 17	nd
SEB	Food poisoning	3, 8.1, 8.2, 8.3	3, 12, 14, 15, 17, 20
SEC1	Food poisoning	7, 8.2, 8.3, 11	12
SEC2	Food poisoning	8.2, 10	12, 13, 14, 15, 17, 20
SEC3	Food poisoning	7, 8.2	5, 12
SED	Food poisoning	3, 7, 8.3, 11, 17	5, 12
SEE	Food poisoning	11, 15, 17	5.1, 6.1–6.3, 8, 18
Toxic-shock-syndrome toxin (TSST1)	Toxic-shock syndrome	15, 16	2
Exfoliative-dermatitis toxin (ExFT)	Scalded-skin syndrome	10, 11, 15	2
Mycoplasma-arthritidis supernatant (MAS)	Arthritis, shock	6, 8.1–8.3	nd
Streptococcal pyrogenic exotoxins (SPE-A, B, C, D)	Rheumatic fever, shock	nd	nd

*Disease results from infection by bacteria that produce the indicated superantigens.

سوپر آنتی‌ژن‌های اندوژن: پروتئین‌های غشایی هستند که توسط ویروس‌های خاصی که سلول‌های پستانداران را آلوده می‌کنند کد می‌شوند. یک گروه، توسط ویروس‌های تومورپستان موش (MTV) کد شده و می‌توانند وارد DNA سویه‌های مشخصی از موش‌های درون‌زا گردند؛ پس از ورود به DNA، پروتئین‌های رتروویروس روی غشای سلول‌های آلوده عرضه می‌شوند. این پروتئین‌های ویروسی با نام **شاخص‌های تحریک لنفوستی فرعی (MIs)**[1] به توالی‌های V_β خاصی در TCRها اتصال یافته و سبب اتصال متقاطع TCR به MHC-II می‌شوند.

از آنجایی که سوپرآنتی‌ژن‌ها به خارج از شیار اتصال به پپتید متصل می‌شوند. هر سلول T دارای توالی V_β خاص، توسط سوپرآنتی‌ژن مرتبط با خود فعال خواهد شد. فعال‌سازی، پلی‌کلونال بوده و می‌تواند روی درصد قابل توجهی (۵٪) از کل جمعیت‌های T_H اثر بگذارد. فعال‌سازی گسترده، منجر به تولید بیش از حد سایتوکاین‌های سلول T_H شده و سبب توکسیسیتی سیستمیک می‌گردد.

1- minor lymphocyte-stimulating determinants

www.bbooks.ir

تمایز سلول T

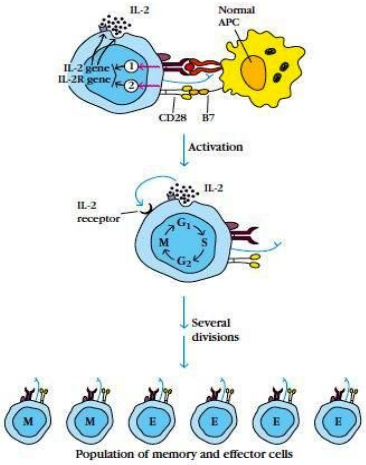
سلول‌های T $CD4^+$، $CD8^+$ تیموس را ترک کرده و به عنوان سلول‌های درحال استراحت (مرحله G0) وارد گردش خون می‌شوند. حدوداً تعداد سلول‌های $CD4^+$ دو برابر تعداد سلول‌های $CD8^+$ در حال گردش می‌باشد. سلول‌های T که تا به حال با آنتی‌ژن مواجه نشده‌اند (دست نخورده) با کروماتین متراکم، سیتوپلاسم بسیار کم و فعالیت نسخه‌برداری پایین مشخص می‌شوند. سلول‌های T دست‌نخورده، پیوسته بین خون و سیستم لنفاوی در حال بازگردش می‌باشند. اگر یک سلول T دست نخورده در غده لنفی با آنتی‌ژن برخورد نکند، از طریق رگ لنفاوی وابران خارج شده و در نهایت به مجرای توراسیک و از آنجا دوباره به گردش خون باز می‌گردد. تخمین زده می‌شود که هر سلول T دست‌نخورده طی ۱۲ تا ۲۴ ساعت از خون به گره لنفی رفته و دوباره به جریان خون باز می‌گردد. به دلیل این که تنها یکی از $۱۰^۵$ سلولT دست نخورده ویژه آنتی‌ژن می‌باشد، بازگردش با چنین میزان بالایی، شانس برخورد سلولT دست‌نخورده با آنتی‌ژن مناسب را افزایش می‌دهد.

- سلول‌های Tفعال شده، سلول‌های اجرایی و خاطره‌ای را ایجاد می‌کنند

اگر سلول T دست نخورده مجموعه پپتید -MHC سطح APC یا سلول هدف را شناسایی کند (پاسخ اولیه) فعال خواهد شد حدود ۴۸ ساعت پس از فعال‌شدن، سلول T بزرگ شده و به بلاست تبدیل می‌شود و شروع به تقسیمات متوالی می‌کند (شکل ۱۶-۱۰).

پیام کمک تحریکی موجب ورود سلول T به فاز G1 چرخه سلولی و نسخه‌برداری از ژن IL-2 و CD25 نیز آغاز می‌شود. به علاوه، پیام‌های کمک تحریکی سبب افزایش نیمه عمر IL-2 mRNA می‌شوند. افزایش نسخه‌برداری از IL-2 همراه با پایداری mRNA آن، میزان تولید IL-2 در سلول T فعال را ۱۰۰ برابر بیشتر می‌کند. ترشح IL-2 و اتصال آن به پذیرنده با میل پیوندی بالا موجب فعال‌شدن، تکثیر و تمایز سلول Tدست‌نخورده می‌شود (شکل ۱۷-۱۰).

www.bbooks.ir



شکل ۱۷-۱۰: فعال سازی سلول T_H به کمک پیام های ۱ و کمک تحریکی ۲ موجب تنظیم افزایشی بیان IL-2 و پذیرنده با میل پیوندی بالای IL-2 شده که منجر به ورود سلول T به چرخه سلولی می گردد.

سلول‌های T فعال شده از این طریق، روزی ۲ تا ۳ بـار و بـه مـدت ۴ تـا ۵ روز تقسـیم می‌شوند و پیش‌سازهای جمعیت T اجرایی و خاطره‌ای تمایز می‌یابند.

سلول‌های T اجرایی مختلف، عملکردهای متفاوتی همچون ترشـح سـایتوکاین، کمـک بـه سلول B (سلول‌های T_Hفعال) و فعالیت سلول‌کشی (CTLهای$CD8^+$) دارند.

سلول‌های T اجرایی $CD4^+$ از دو زیر مجموعه تشکیل شده‌اند که براساس الگوی متفاوت ترشح سایتوکاین از یکدیگر متمایز می‌شوند. یک جمعیت T_H1 کـه IL-2 ، IFN-γ و TNF-α را ترشح می‌کند و مسئول عملکردهای سلولی مثل ازدیـاد حساسیت تأخیری و فعال‌سازی سلول‌های Tc می‌باشند. زیرمجموعه دیگـر T_H2 بـوده کـه IL-4، IL-5 ، IL-6 و IL-10 را ترشح کرده و به فعال شدن سلول‌های B کمک می‌کند.

جمعیت سلول‌های Tخاطره‌ای، از سلول‌های Tدست نخورده و از سلول‌های اجرایی حاصل می‌شوند. سلول‌های Tخاطره‌ای، در مواجهـه بـا آنتـی‌ژن تولیـد مـی‌شـوند و معمـولاً طـول

www.bbooks.ir

عمرزیادی دارند. آنها سلول‌های خاموش بوده که در صورت مواجهه با همان آنتی‌ژن، پاسخ قوی‌تری ایجاد می‌کنند. جمعیت سلول‌های Tخاطره‌ای مدت زمان بیشتری پس از کاهش جمعیت سلول‌های T اجرایی باقی می‌مانند. به طور معمول، بسیاری از شاخص‌های سطحی سلول‌های Tخاطره‌ای شبیه سلول‌های T اجرایی بوده و هیچ شاخص سطحی که به طور قطع مشخصه سلول‌های خاطره‌ای باشد، شناخته نشده است.

اغلب سلول‌های T خاطره‌ای، سلول‌های در حال استراحت و در مرحله G0 چرخه سلولی می‌باشند، اما نیازمندی آنها برای فعال‌شدن، به سخت‌گیری نیازمندی‌های سلول‌های دست‌نخورده نمی‌باشد.

- تنظیم منفی پاسخ ایمنی، توسط زیر جمعیت $CD4^+CD25^+$ سلول‌های T صورت می‌گیرد

در اوایل سال ۱۹۷۰ محققان برای اولین بار جمعیت‌هایی از سلول T را توصیف کردند که می‌توانستند پاسخ‌های ایمنی را سرکوب کنند. این سلول‌ها، سلول‌های سرکوبگر (Ts) نامیده شدند و اعتقاد براین بود که این سلول‌ها،$CD8^+T$ می‌باشند. با این حال، اساس ملکولی و سلولی این‌گونه سرکوب‌ها مبهم ماند و در نهایت منجر به این امر شد که نسبت به حضور سلول‌های $CD8^+T$ سرکوبگر تردید ایجاد شود. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که سلول‌هایTسرکوبگر پاسخ ایمنی وجود دارند ولی به طور غیرقابل انتظاری، این سلول‌ها $CD4^+$ هستند. در میان جمعیت سلول‌های $CD4^+CD25^+$، سلول های T تنظیمی (Treg) بودند که می‌توانستند مانع از تکثیر سایر جمعیت‌های سلول T در in vitro شوند. سرکوب با واسطه این سلول‌های تنظیمی، ویژگی آنتی‌ژنی از خود نشان می‌دهد، زیرا وابسته به فعال شدن TCR است. تماس مستقیم سلولی بین سلول‌های سرکوبگر و هدف ضروری می‌باشد. اگر سلول‌های تنظیمی بوسیله آنتی‌ژن فعال شوند ولی توسط یک سد نفوذناپذیر از هدف‌های خود جدا بمانند، سرکوبی صورت نخواهد گرفت. وجود سلول‌های T تنظیمی که

www.bbooks.ir

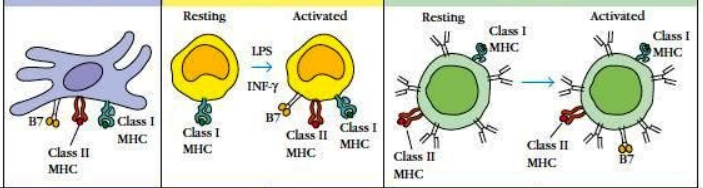
به طور اختصاصی پاسخ‌های ایمنی را سرکوب می‌کنند،کاربردهای بالینی دارند. حذف یا مهار سلول‌های T تنظیمی به دنبال ایمن‌سازی، می‌تواند پاسخ ایمنی به واکسن‌های متداوال را افزایش دهد. با توجه به این امر، برخی پیشنهاد می‌کنند که حذف سلول‌های T سرکوبگر می‌تواند ایجاد ایمنی ضدتوموری را تسهیل نماید. برعکس، افزایش فعالیت سرکوب‌کنندگی جمعیت‌های سلول T تنظیمی می‌تواند در درمان بیماری‌های خود ایمن و آلرژیک مفید باشد.

- APCها خصوصیت کمک تحریکی دارند

تنها سلول‌های حرفه‌ای عرضه کننده آنتی‌ژن قادر به عرضه آنتی‌ژن‌ها همراه با مولکول‌های MHC-II و انتقال پیام کمک تحریکی ضروری برای فعال‌سازی، تکثیر و تمایز کامل سلول‌های T می‌باشند.

گلیکوپروتئین‌های B7-1(CD80)، B7-2(CD86) مولکول‌های کمک تحریکی اصلی APCها می‌باشند (شکل ۱۸-۱۰). سلول‌های دندریتیک به طور ساختاری مقادیر بالایی از مولکول‌های MHC-I، MHC-II، B7-1 و B7-2 را عرضه می‌کنند و به همین دلیل قدرت بالایی در فعال‌سازی سلول‌های Tدست نخورده، اجرایی و خاطره‌ای دارند. ماکروفاژهای درحال استراحت، قادر به فعال‌سازی سلول‌های T دست نخورده نبوده و فعال‌کننده‌های ضعیفی برای سلول‌های T خاطره‌ای و اجرایی می‌باشند. ماکروفاژها با بیگانه‌خواری باکتری‌ها یا محصولات باکتریایی مانند LPS و یا توسط IFN-γ می‌توانند فعال شوند. ماکروفاژهای فعال شده به صورت تنظیمی، عرضه مولکول‌های MHC-II و B7 را افزایش می‌دهند. بنابراین، ماکروفاژهای فعال شده، فعال‌کننده سلول‌های T خاطره‌ای و اجرایی می‌باشند اما در فعال‌سازی سلول‌های T دست نخورده به طور قابل توجهی ضعیف می‌باشند.

www.bbooks.ir



	Dendritic cell	Macrophage		B Lymphocyte	
Antigen uptake	Endocytosis phagocytosis (by Langerhans cells)	Phagocytosis	Phagocytosis	Receptor-mediated endocytosis	Receptor-mediated endocytosis
Class II MHC expression	Constitutive (+++)	Inducible (–)	Inducible (++)	Constitutive (++)	Constitutive (+++)
Co-stimulatory activity	Constitutive B7 (+++)	Inducible B7 (–)	Inducible B7 (++)	Inducible B7 (–)	Inducible B7 (++)
T-cell activation	Naive T cells Effector T cells Memory T cells	(–)	Effector T cells Memory T cells	Effector T cells Memory T cells	Naive T cells Effector T cells Memory T cells

شکل ۱۸-۱۰: تفاوت خصوصیات APC های حرفه ای و توانایی آنها در عرضه آنتی ژن و فعال سازی سلول T.

سلول‌های B نیز به عنوان سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن در فعال‌سازی سلول T عمل می‌کنند. سلول‌های B در حال استراحت، MHC-II را عرضه می‌کنند ولی توانایی عرضه مولکول‌های B7 را ندارند. در نتیجه، سلول‌های B در حال استراحت، نمی‌توانند سلول‌های T را فعال کنند.

- جمعیت‌های سلول T و مرگ سلولی

مرگ سلولی یکی از مهمترین جنبه‌های تکوین ارگانیسم‌های پرسلولی می‌باشد. در طی دوره جنینی، مرگ سلولی با حذف سلول‌های غیرضروری، امکان شکل‌گیری جنین را فراهم می‌آورد. همچنین مرگ سلولی یکی از جنبه‌های مهم هومئوستاز لنفوسیت‌ها می‌باشد، به طوری که جمعیت سلول‌های T و B را پس از تکثیر انفجاری، به میزان طبیعی باز می‌گرداند. آپوپتوز در حذف تیموسیت‌های خودواکنشگر در طول گزینش منفی، نقش

www.bbooks.ir

حساسی بر عهده دارد و همچنین برداشت سلول‌های T در حال تکوین که قادر به شناسایی مولکول‌های MHC خودی نمی‌باشند.

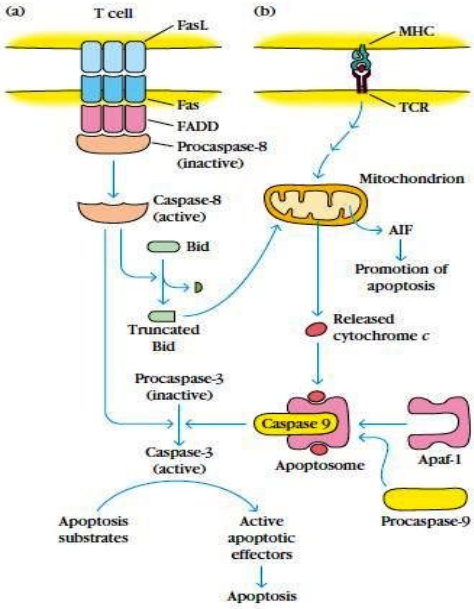
اگر چه تحریک آپوپتوز با پیام‌های مختلف صورت می‌گیرد ولی مرگ سلولی، فرآیندی است که در میان مهره‌داران و بی‌مهره‌ها حفاظت شده می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مرگ سلولی، وابسته به فعالیت ژنی است که سیستیئن پروتئازی را کد می‌کند که فعالیت آن برای زیرواحدهای اسیدآسپارتیک اختصاصی می‌باشد. امروزه می‌دانیم که پستانداران حداقل ۱۴ نوع سیستئین‌پروتئاز (کاسپاز) دارند و تمام مرگ‌های سلولی، نیازمند فعالیت حداقل یک زیرمجموعه از این مولکول‌ها می‌باشد. همچنین می‌دانیم که تمام سلول‌های بدن به طور ذاتی پروتئین‌های کاسپاز را تولید می‌کنند و این امر، نشان دهنده این است که هر سلول، بالقوه توان آغاز مرگ خود را دارد.

در شرایط طبیعی، سلول‌ها با نگه‌داشتن کاسپازها به فرم غیر فعال، از خودشان در برابر مرگ آپوپتوزی محافظت می‌کنند. در صورت دریافت پیام مرگ، برخی کاسپازها با هضم پروتئولیتیکی فعال شده و سپس سایر کاسپازها را فعال می‌کنند، که این امر منجر به فعال شدن کاسپازهای اجرایی می‌گردد.

این آبشارکاتالیتیکی در نهایت سبب مرگ سلولی می‌شود. اگر چه هنوز مشخص نشده است که چه‌طور فعالیت کاسپازها مستقیماً منجر به مرگ آپوپتوزی سلولی می‌شود، اما به احتمال زیاد این عمل را از طریق تخریب مولکول‌های حیاتی برای بقای سلول انجام می‌دهد.

سلول‌های T از دو مسیر مختلف برای فعال‌سازی کاسپازها استفاده می‌کنند (شکل ۱۹-۱۰).

www.bbooks.ir



شکل ۱۹-۱۰: دو مسیر آپوپتوز در سلول های T. (a) سلول های T محیطی فعال مقادیر بالایی از Fas و FasL را عرضه می کنند. (b) پیام های دیگر نظیر درگیری TCR با مجموعه پپتید – MHC بر روی APCها که موجب فعال شدن مسیر مرگ میتوکندریایی می شود.

در سلول‌های Tمحیطی تحریک آنتی‌ژنی منجر به تکثیر سلول T تحریک شده و تولید سایتوکاین‌هایی مثل IL-2 می‌شود. سلول‌های T فعال‌شده، عرضه دو پروتئین سطحی Fas و FasL که نقش اساسی در مرگ سلول T دارند را افزایش می‌دهند. زمانی که Fas به FasL اتصال می‌یابد، FADD فراخوانده شده و به Fas متصل می‌شود و به دنبال آن پروکاسپاز ۸ فراخوانده می‌شود. تجمع FADD با پروکاسپاز ۸ منجر به هضم پروتئولیتیک پروکاسپاز ۸ شده و آن را به شکل فعال کاسپاز ۸ تبدیل می‌کند.

علاوه بر این، در تیموس نیز بیشتر مرگ‌های آپوپتوزی از مسیر Fas صورت می‌گیرد. تحریک پیوسته و پایدار سلول‌های T محیطی منجر به عرضه همزمان Fas، FasL می‌شود و

www.bbooks.ir

این موجب مرگ آپوپتوزی سلول‌ها می‌گردد. مرگ سلول‌های T با واسطه Fas/FasL در نتیجه فعال‌شدن، **مرگ سلولی ناشی از فعالیت[1] (AICD)** نامیده می‌شود.

Fas و FasL اعضای خانواده مرتبط با گیرنده / لیگاند TNF و TNFR می‌باشند. شبیه Fas و FasL، واکنش TNFR غشایی با TNF سبب تحریک آپوپتوز می‌شود. TNF/TNFR نیز مرگ را از طریق فعال‌سازی کاسپاز ۸ و به دنبال آن فعال‌شدن کاسپازهای اجرایی(مثل کاسپاز ۳) تحریک می‌کند.

علاوه بر فعال‌شدن آپوپتوز از طریق پروتئین‌های پذیرنده مرگ (مانند Fas و TNFR) سلول‌های T از سایر مسیرهای مستقل از کاسپاز ۸ نیز می‌توانند از بین بروند. برای مثال، مسیرهای انتقال پیامی که از TCR منشأ می‌گیرند (گزینش منفی تیموس) سبب مرگ آپوپتوزی سلول‌های T در حال تکوین می‌شوند.

با این که هنوز به طور کامل نمی‌دانیم که چرا برخی از پیام‌های TCR منجر به گزینش مثبت و برخی منجر به گزینش منفی می‌شوند، اما می‌دانیم که قدرت این پیام‌ها نقش مهمی در این امر برعهده دارند. یک پیام قوی سبب گزینش منفی و در نهایت آپوپتوز می‌شود. در این مسیرهای آپوپتوزی(وابسته به میتوکندری) سیتوکروم C از میتوکندری به سیتوپلاسم نفوذ می‌یابد. سیتوکروم C به پروتئینی با نام Apaf-1 (عامل فعال‌کننده آپوپتوز-۱) اتصال می‌یابد و تحت یک تغییر آرایش وابسته به ATP قرار گرفته و اولیگومریزه می‌گردد. اتصال شکل اولیگومریزه Apaf-1 به پروکاسپاز ۹ منجر به تغییر شکل آن به کاسپاز ۹ فعال می‌شود. مجموعه سیتوکروم Apaf-1/c کاسپاز ۹ (آپوپتوزوم[2]) با هضم پروتئولیتیکی پروکاسپاز ۳ آن را به کاسپاز ۳ فعال تبدیل کرده و آبشاری از واکنش‌ها را به راه می‌اندازد که منجر به مرگ سلولی می‌شود (شکل ۱۹-۱۰). سرانجام میتوکندری، عامل القا کننده آپوپتوز(AIF) که در القای مرگ سلول نقش دارند را نیز ترشح می‌کند.

1- activation induced cell death (AICD)
2- apoptosome

www.bbooks.ir

یکی از جنبه‌های مهم مسیرهای مرگ سلولی تحریک شده توسط میتوکندری، نقش تنظیمی اعضای خانواده Bcl-2 می‌باشد. Bcl-2 و Bcl-xl هر دو درغشای میتوکندری حضور دارند. این پروتئین‌ها مهار کننده‌های قوی آپوپتوز می‌باشند و یک فرضیه برای چگونگی عمل آنها این است که آنها به طریقی رهایی سیتوکروم C از میتوکندری را تنظیم می‌کنند.

حداقل سه گروه از اعضای خانواده Bcl-2 وجود دارند. گروه I، ضد آپوپتوزی بوده و شامل Bcl-2 و Bcl-xl می‌باشند. اعضای گروه II و III پیش آپوپتوزی بوده و شامل Bax و Bak در گروه II و Bid و Bim در گروه III می‌باشند. شواهد آشکاری وجود دارد که مقدار اعضای خانواده ضد آپوپتوزی Bcl-2 نقش مهمی در تنظیم آپوپتوز لنفوسیت‌ها بازی می‌کنند. این اعضا دایمر بوده و با اعضای پیش آپوپتوزی در کنترل آپوپتوز نقش داشته و سبب مهار فعالیت آنها می‌شوند. همان‌طور که شکل ۱۹-۱۰ نشان می‌دهد، شکست Bid می‌تواند مسیر مرگ میتوکندریایی را روشن کند. بنابراین، پیام‌هایی که توسط Fas آغاز شده‌اند، می‌توانند در مسیر میتوکندریایی نیز شرکت کنند. هر چند که یک لنفوسیت پیام مرگ را می‌تواند از چندین طریق دریافت کند، اما تمام این مسیرها مقصد مشترک (فعال‌شدن کاسپازها) دارند.

- خلاصه

- پیش‌ساز سلول‌های T از مغز استخوان به تیموس وارد شده و ژن‌های TCR خود را بازآرایی می‌کنند. در بیشتر موارد، این تیموسیت‌ها ژن‌های αβTCR را بازآرایی می‌کنند. شمار اندکی از آنها نیز ژن‌های γδTCR را بازآرایی کرده و به سلول‌های T γδ تبدیل می‌شوند. تیموسیت‌های اولیه فاقد CD4 و CD8 قابل تشخیص بوده و به آنها سلول‌های دوگانه منفی (DN) اتلاق می‌شود. در طول تکامل، اکثر تیموسیت‌های DN به سلول‌های αβT $CD4^+CD8^-$ یا $CD4^-CD8^+$ تبدیل می‌شوند.

www.bbooks.ir

- گزینش مثبت در تیموس، سلول‌های T ناتوان در شناخت MHC خودی را حذف کرده و اساس محدودیت به MHC خودی را تشکیل می‌دهد. گزینش منفی، تیموسیت‌هایی که پذیرنده با میل پیوندی بالا برای مولکول‌های MHC خودی به تنهایی یا آنتی‌ژن‌های خودی همراه با MHC خودی دارند را حذف کرده و اساس تحمل به خود می‌باشد.
- با واکنش میان مجموعه TCR/CD3 با مجموعه پپتید -MHC سطح APC، فعال‌سازی سلول T شروع می‌شود. فعال‌سازی نیازمند فعالیت مولکول‌های کمکی مثل CD4 و CD8 نیز می‌باشد. با درگیری TCR، مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی فراوانی فعال می‌شوند.
- سلول‌های T عرضه کننده CD4، آنتی‌ژن همراه MHC-II را شناسایی کرده و عملکرد آنها همانند سلول‌های T_H می‌باشد. سلول‌های T عرضه کننده CD8 آنتی‌ژن را همراه MHC-I شناسایی کرده و معمولاً عملکرد آنها مانند سلول‌های Tc می‌باشد.
- علاوه بر پیام‌های انتقال یافته از TCR و مولکول‌های کمکی (پیام ۱) فعال‌سازی سلول T_H نیازمند پیام کمک‌تحریکی (پیام۲) ایجاد شده توسط APCها نیز می‌باشد. پیام کمک تحریکی به طور عادی توسط واکنش میان مولکول های خانواده B7 روی غشای APC با CD28 سطح سلول T_H ایجاد می‌شود. درگیری CTLA-4، B7 فعال شدن سلول T را مهار می‌کند.
- سلول‌های Tدست نخورده، سلول‌های درحال استراحت (G0) می‌باشند که با آنتی‌ژن مواجه نشده‌اند. فعال‌شدن این سلول‌ها منجر به تولید سلول‌های T اجرایی و خاطره‌ای می‌شود. سلول‌های Tخاطره‌ای که بسیار ساده‌تر از سلول‌های دست‌نخورده فعال می‌شوند، مسئول پاسخ‌های ثانویه می‌باشند. سلول‌های اجرایی طول عمر کوتاهی داشته و شامل سلول‌های T کمک کننده و سیتوتوکسیک می‌باشند.
- گنجینه سلول‌های T، با آپوپتوز در تیموس و بافت‌های محیطی شکل می‌گیرد.

www.bbooks.ir

- سئوالات درسی

۱- شما کلون $CD8^+CTL$ از یک موش $H\text{-}2^K$ که پذیرنده ویژه آنتی‌ژن H-Y دارد. در اختیار دارد. ژن‌های αβTCR این رده سلولی را کلون کرده و از آنها برای تهیه موش‌های ترانس ژنیک با هاپلوتایپ $H\text{-}2^d$ یا $H\text{-}2^k$ استفاده می‌کنید.

Transgenic mouse	Immature thymocytes	Mature $CD8^+$ thymocytes
$H\text{-}2^k$ female		
$H\text{-}2^k$ male		
$H\text{-}2^d$ female		
$H\text{-}2^d$ male		

الف) شما چطور تیموسیت‌های بالغ $CD8^+$ را از تیموسیت‌های نابالغ موش‌های ترانس ژنیک متمایز می‌کنید؟

ب)برای هر موش ترانس ژنیک فهرست شده در جدول، نشان دهید (+) یا (-)، آیا موش‌ها حاوی تیموسیت‌های دوگانه مثبت بالغ و $CD8^+$ بالغ، پذیرنده ترانس ژنیک را عرضه می‌کنند یا خیر.

پ) پاسخ خود را در مورد ترانس ژنیک‌های $H\text{-}2^K$ توضیح دهید.

ت) پاسخ خود را در مورد ترانس ژنیک‌های $H\text{-}2^d$ توضیح دهید.

۲- سایکلوسپورین و FK506 داروهای سرکوب کننده ایمنی قدرتمندی می‌باشند که برای گیرندگان پیوند تجویز می‌شوند. هر دو دارو مانع از تشکیل کمپلکس کلسی‌نورین و کالمودولین /Ca^{2+} می‌شوند. باتوجه به شکل ۱۲-۱۰ توضیح دهید که چرا این ترکیبات مانع از رد پیوند با واسطه سلول Tمی‌شوند.

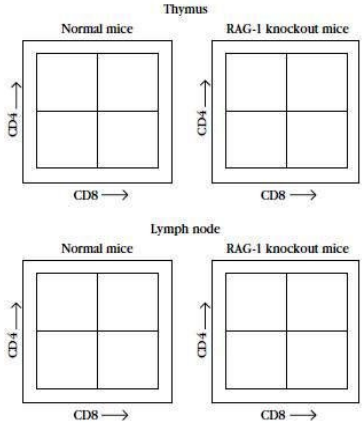
۳- فعال‌شدن با واسطه آنتی‌ژن سلول‌های T، منجر به رهایی یاتحریک عوامل هسته‌ای مختلفی می‌شود که نسخه‌برداری از ژن‌ها را تحریک می‌کنند.

الف) کدام عوامل نسخه‌برداری تکثیر سلول‌های Tفعال، در سیتوپلاسم سلول‌های در حال استراحت و به شکل غیر فعال حضور دارند؟

www.bbooks.ir

ب) این عوامل زمانی که به هسته می‌رسند چه عملی را انجام می‌دهند؟

۴- شما آنتی‌بادی ضد CD4 نشاندار با فلورسئین و آنتی‌بادی ضد CD8 نشاندار با فایکواریترین در اختیاردارید. از این آنتی‌بادی‌ها برای رنگ‌آمیزی تیموسیت‌ها و سلول‌های غدد لنفاوی موش‌های طبیعی و موش‌های ژن تخریب شده RAG-1 استفاده می‌کنید. در اشکال زیر، طرح FACS مورد انتظار را رسم کنید.



۵- به منظور اثبات تجربی گزینش مثبت تیموس، محققان تیموسیت‌های موش‌های طبیعی $H\text{-}2^d$ که فاقد ژن IE کلاس II می‌باشند و موش‌های $H\text{-}2^d$ که ژن IA کلاس II آنها تخریب شده بود ۱ مورد تحلیل قرار دادند.

الف) چه مولکول‌های MHC روی APCهای موش طبیعی $H\text{-}2^d$ خواهید یافت؟

ب) چه مولکول‌های MHC روی APCهای موش‌های ژن تخریب شده $H\text{-}2^d$ خواهید یافت؟

پ) انتظار دارید کدام یک از سلول‌های$CD4^+T$، $CD8^+$ یا هر دو را در این موش‌ها ملاحظه کنید؟ چرا؟

۶- زینکرناگال برای انجام آزمایشات با موش‌های کایمریک، مغز استخوان موش۱ و تیموس موش ۲ را به موش ۳ که فاقد تیموس شده وتحت پرتو قرار گرفته بود، پیوند

www.bbooks.ir

زد. سیستم خونساز موش بازسازی شد و سپس موش را در معرض LCMV قرار داده و سلول‌های طحال آن را خارج نمود. او سلول‌های طحال را با سلول‌های هدف آلوده به LCMV با هاپلوتایپ‌های متفاوت MHC مجاور کرد و لیز سلول‌های هدف را مورد بررسی قرار داد. نتایج دو آزمایش با استفاده از موش‌های $H\text{-}2^d$ سویه C57BL/6 و موش‌های $H\text{-}2^d$ سویه BALB/c در جدول نشان داده شده است.

Experiment	Bone-marrow donor	Thymectomized, x-irradiated recipient	Lysis of LCM-infected target cells		
			$H\text{-}2^d$	$H\text{-}2^k$	$H\text{-}2^b$
A	C57BL/6 × BALB/c	C57BL/6 × BALB/c	+	−	−
B	C57BL/6 × BALB/c	C57BL/6 × BALB/c	−	−	+

الف) هاپلوتایپ سویه دهنده تیموس در آزمایش A و آزمایش B چه بوده است؟

ب) چرا سلول‌های هدف $H\text{-}2^d$ در آزمایش A لیز نشدند ولی در آزمایش B لیز شدند؟

پ) چرا سلول‌های هدف $H\text{-}2^k$ در هیچ کدام از آزمایشات لیز نشده بودند؟

۷- جاهای خالی را با یکی از واژه‌های مناسب جدول زیر پر کنید. واژه‌ها ممکن است یک بار، چند بار یا اصلاً استفاده نشوند.

protein phosphatase(s)	CD8	Class I MHC	CD45
protein kinase(s)	CD4	Class II MHC	B7
CD28	IL-2	IL-6	CTLA-4

الف) p56LCK و ZAP-70 ..... می‌باشند.

ب) ..... یک پروتئین غشایی سلول T می‌باشد که دومن سیتوپلاسمی آن فعالیت فسفاتازی دارد.

پ) سلول‌های دندریتیک ..... را پیوسته عرضه می‌کنند، در صورتی که سلول‌های B پیش از عرضه این مولکول‌ها بایستی فعال شوند.

ت) فعال شدن سلول‌های T_H منجر به ترشح ..... می‌شود که سبب تکثیر و تمایز آنها می‌شود.

www.bbooks.ir

ث) پیام‌های کمک تحریکی مورد نیاز برای فعال‌سازی کامل سلول T در اثر واکنش ..... روی سلول T و ..... روی APC ایجاد می‌شوند.

ج) موش‌های ژن تخریب شده مولکول‌های MHC-I در تولید تیموسیت‌های حامل ..... با شکست مواجه می‌شوند.

چ) ماکروفاژها پیش از عرضه ..... و ..... بایستی فعال شوند.

ح) سلول‌های T عرضه کننده ..... در موش‌های ژن تخریب شده MAC-II حضور ندارند.

خ) PIP2 توسط ..... شکسته شده و DAG و IP3 را تولید می‌کند.

د) در سلول‌های T فعال، DAG سبب فعال شدن ..... می‌شود که موجب تولید NF-κB می‌شود.

ذ) ..... سبب تحریک و ..... سبب مهار فعالیت سلول T در اثر درگیری با واسطه ..... یا APCها می‌شوند.

۸- شما می‌خواهید درصد تیموسیت‌های مختلف را در نمونه تیموس موش با استفاده از روش IF غیر مستقیم تعیین کنید.

الف) شما ابتدا نمونه را با آنتی‌بادی بزی ضد CD3و سپس با آنتی‌بادی خرگوشی ضد Ig بز و نشاندار شده با FITC که رنگ سبز ساطع می‌کند، رنگ‌آمیزی می‌کنید. آنالیز نمونه توسط فلوسایتومتری نشان می‌دهد که ۷۰٪ سلول‌ها رنگ شده‌اند. براساس این نتایج، چه تعداد سلول تیموس موجود در نمونه، در سطح خود، TCR را عرضه می‌کنند؟ آیا تمام آنها یک نوع پذیرنده را عرضه می‌کنند؟ توضیح دهید.

ب) شما سلول‌های $CD3^+$ را توسط FACS جدا می‌کنید و آنها را دوباره رنگ‌آمیزی می‌کنید. این بار آنتی‌بادی اولیه آنتی‌بادی همستر ضد CD4 و آنتی‌بادی ثانویه، آنتی‌بادی خرگوش ضد Ig همستر نشاندار شده با PE می‌باشد که قرمز را ساطع می‌کند. تحلیل سلول‌های$CD3^+$ نشان می‌دهد که ۸۰٪ آنها رنگ شده‌اند. آیا

www.bbooks.ir

می‌توانید تعداد سلول‌های Tc را در نمونه تعیین کنید؟ تعداد این سلول‌های T چقدر است؟ اگر جواب شما منفی است، چه آزمایش دیگری بایستی برای تعیین تعداد سلول‌های Tc انجام دهید؟

۹- بسیاری از آثار واکنش MHC-TCR می‌تواند توسط تزریق یونومایسین به اضافه فوربول استر دو برابر شود. یونومایسین یک یونوفر Ca^{2+} است و فوربول استر آنالوگ DAG می‌باشد. چرا این تزریق بسیاری از آثار درگیری TCR را تقلید می‌کند؟

۱۰- در موش‌هایی که تغییرات ژنتیکی زیر در آنها ایجاد شده انتظار دارید چه تأثیری روی مرگ سلولی آنها مشاهده کنید؟ پاسخ خود را توضیح دهید.

الف) موش‌هایی که برای Bcl-2 ترانس ژنیک بوده و این پروتئین را به میزان بالایی بیان می‌کنند.

ب) موش‌هایی که ژن کاسپاز ۸ آنها تخریب شده است.

پ) موش‌هایی که ژن کاسپاز ۳ آنها تخریب شده است.

۱۱- در این فصل، اساس چندین روند انتقال پیام تعریف و توضیح داده شده این روند کدامند؟ با توجه به فرآیندهای انتقال پیام در فعال‌شده سلول T، مثالی از هر کدام از این پنج روند، ذکر کنید.

۱۲-اگر چه بیشتر سلول‌های T بدن، αβTCR را عرضه می‌کنند، اما شمار محدودی از آنها (۵٪) نیز γδTCR را عرضه می‌کنند. تفاوت شناسایی Ag توسط این دو نوع سلول را توضیح دهید.

سلول‌های Tوجود دارند که با عرضه آنتی‌ژن ویژه خود تحریک نمی‌شوند، در حالی که سلول‌های T دیگری نیز وجود دارند که بدون عرضه آنتی‌ژن‌های ویژه خود، به عنوان سلول‌های اجرایی عمل می‌کنند. توضیح دهید که چگونه بدون فعال‌سازی، فعال شدن سلول T صورت می‌گیرد؟ وقایع انتقال پیامی که منجر به این پاسخ می‌شوند را مقایسه کنید.

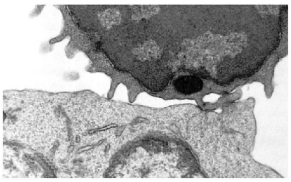
www.bbooks.ir

فصل یازدهم

بلوغ، فعال شدن و تمایز سلولB

- بلوغ سلول B
- فعال شدن شدن و تکثیر سلول B
- پاسخ هومورال
- مکان‌های in vivo برای تحریک پاسخ‌های هومورال
- مراکز زایا و تمایز سلول B وابسته به آنتی‌ژن
- تنظیم پاسخ‌های ایمنی اجرایی

www.bbooks.ir

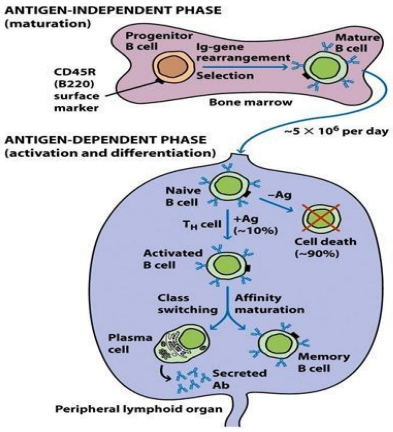


فرآیندهای تکوین که منجر به تولید پلاسماسل‌ها وسلول‌های B خاطره‌ای می‌شود را می‌توان به سه مرحله تقسیم نمود: بلوغ، فعال شدن سلول‌های B و تمایز سلول‌های B فعال به پلاسماسل‌ها و سلول‌های خاطره‌ای در بسیاری از مهره‌داران، مغز استخوان جایگاه ساخت سلول‌های B می‌باشد. این روند، توالی منظمی از بازآرایی ژن‌های ایمونوگلبولین می‌باشد که در غیاب آنتی‌ژن انجام گرفته و فاز مستقل از آنتی‌ژن تکوین سلول B می‌باشد.

سلول B نابالغ حاوی IgM غشایی، مغز استخوان را ترک کرده و با عرضه IgM و IgD غشایی با ویژگی یکسان، بالغ می‌شود. این سلول‌های B دست نخورده[1] در خون و لنف گردش کرده و به اعضای لنفاوی ثانویه حمل می‌شوند. اگر سلول B با واسطه واکنش با آنتی‌ژن و شناخت آن از طریق آنتی‌بادی غشایی فعال شود، سلول تکثیر و تمایز می‌یابد تا جمعیتی از پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی و سلول‌های B خاطره‌ای را به وجود آورد. در نتیجه فعال شدن، برخی سلول‌های B تحت بلوغ میل پیوندی[2] و بسیاری نیز تحت تعویض ایزوتایپ[3] قرار می‌گیرند. از آنجایی که فعال‌سازی و تمایز سلول B دربافت‌های محیطی نیازمند آنتی‌ژن می‌باشد، این مرحله، فاز وابسته به آنتی‌ژن تکوین سلول B نامیده می‌شود(شکل ۱-۱۱).

1- navie
2- affinity maturation
3- class switching

www.bbooks.ir



شکل مروری ۱-۱۱: تکوین سلول

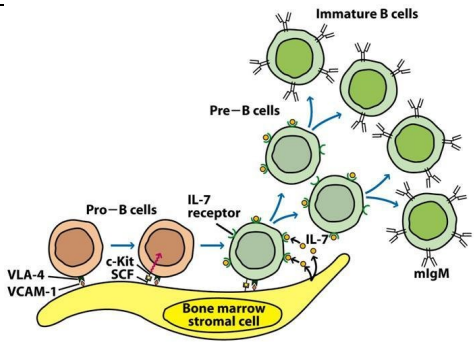
- بلوغ سلول B

تولید سلول‌های B بالغ، در ابتدا در طی مرحله جنینی رخ داده و در طول زندگی ادامه می‌یابد. قبل از تولد، کیسه زرده، کبد جنینی و مغز استخوان جنینی جایگاه‌های اصلی بلوغ سلول B می‌باشند. پس از تولد، تولید سلول‌های B بالغ در مغز استخوان انجام می‌شود.

- سلول‌های پیش‌ساز B در مغز استخوان تکثیر می‌شوند

تکوین سلول B ، از تمایز سلول‌های پیش‌ساز لنفوئیدی به سلول با مشخصه دودمان سلول B ابتدایی (pro-B cell) آغاز می‌شود. سلول pro-B حاوی یک تیروزین فسفاتاز غشایی به نام CD45R می‌باشد. تکثیر و تمایز سلول‌های pro-B به سلول‌های Pre-B نیازمند ریز محیط‌های حاوی سلول‌های استرومایی مغز استخوان می باشد. سلول‌های استرومایی دو نقش مهم دارند: میانکنش مستقیم با سلول‌های pro-B و pre-B و دیگری ترشح سایتوکاین‌های مختلف که فرآیندهای تکوین را حمایت می‌کنند. میانکنش سلول‌های pro-B توسط چندین CAM مانند VLA-4 به سلول‌های استرومایی (VCAM-1) صورت می‌گیرد(شکل ۲-۱۱).

www.bbooks.ir



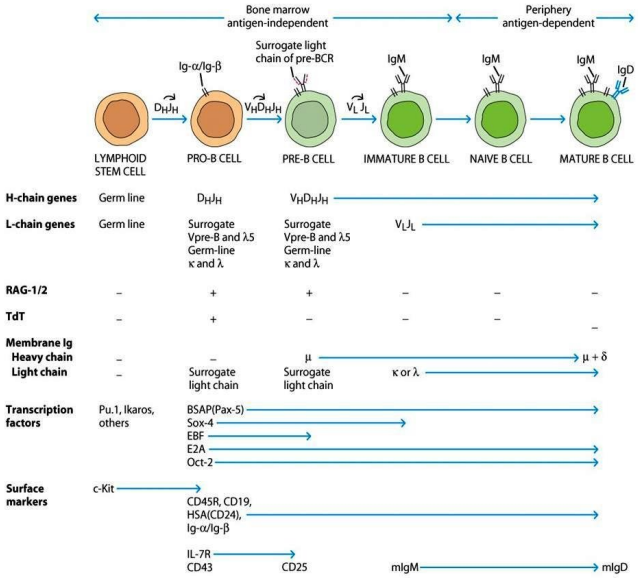
شکل ۲-۱۱: سلول های استرومایی مغز استخوان جهت بلوغ سلول های اجدادی B و تبدیل آنها به پیش ساز B لازم می باشند.

پس از تماس ابتدایی، پذیرنده‌ای تحت عنوان c-kit روی سلول‌های pro-B با مولکول سطحی سلول‌های استرومایی با نام فاکتور سلول بنیادی (SCF) واکنش می‌دهد. این تماس موجب فعال شدن تیروزین کیناز c-kit شده و سلول pro-B شروع به تکثیر و تمایز کرده و به pro-B تبدیل می‌گردد. IL-7 ترشح شده توسط سلول‌های استرومایی به پذیرنده IL-7 سطح سلول pre-B متصل شده و فرآیندهای بلوغ را به پیش می‌برد.

- بازآرایی ژن ایمونوگلبولین و تولید سلول‌های B بالغ

بلوغ سلول B وابسته به بازآرایی DNA ایمونوگلبولین در سلول‌های بنیادی لنفوئیدی می‌باشد. ابتدا در مرحله pro-B ، بازآرایی ژن در زنجیره سنگین D_H به J_H و پس ازآن بازآرایی V_H به D_HJ_H انجام می‌گیرد(شکل ۳-۱۱).

www.bbooks.ir



شکل ۳-۱۱: سلسله وقایع و خصوصیات مراحل بلوغ سلول B در مغز استخوان.

پس از تکمیل بازآرایی زنجیره سنگین، ادامه تکوین سلولی pre-B به سلول B بالغ نیازمند بازآرایی کارآمد ژن زنجیره سبک می‌باشد. بدلیل حذف آللی، تنها یک ایزوتیپ زنجیره سبک روی غشای سلول B عرضه می‌شود. با تکمیل بازآرایی زنجیره سبک، سلول B نابالغ متعهد به عرضه شاخص آنتی‌ژن ویژه‌ای می‌باشد که توسط توالی‌های VDJ زنجیره سنگین و VJزنجیره سبک ایجاد می‌شود. سلول B نابالغ با عرضه mIgM (IgM غشایی) همراه با Ig-α و Ig-β در سطح خود، پذیرنده کامل سلول B (BCR) را تشکیل می‌دهد که پس از اتصال به آنتی‌ژن قادر به انتقال پیام می‌باشد.

- پذیرنده سلول pre-B برای تکوین سلول B ضروری می‌باشد

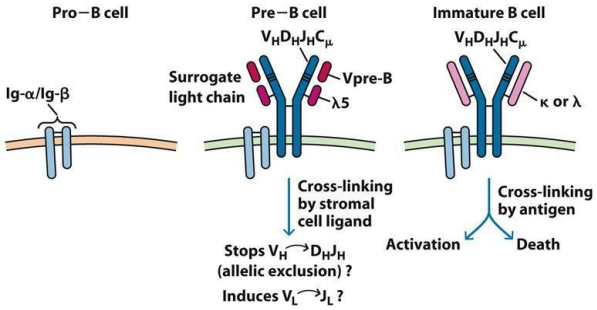
زنجیره β پذیرنده سلول T همراه با pre-Tα، پذیرنده سلول pre-T را تشکیل می‌دهند (شکل ۲-۱۰). این امر در طی تکوین سلول B نیز رخ می‌دهد. در سلول pre-B، زنجیره μ

www.bbooks.ir

غشایی با زنجیره سبک جایگزین مجتمع می‌شود. زنجیره سبک جایگزین، مجموعه‌ای حـاوی دو پروتئین می‌باشد: یک توالی شبه V به نام Vpre-Bو یک توالی شبهC با نام γ5 ، که به طور غیر کووالان به یکدیگر متصل شده و ساختار شبه زنجیره سبک را تشکیل می‌دهند.

مجموعه زنجیره سنگین μ در **زنجیره سبک جایگزین**[1] همراه بـا هترودایمرهـای Ig-α و Ig-β درسطح سلول pre-B به عنوان پذیرنده سلول pre-B حضور می‌یابند (شکل ۴-۱۱).

تنها سلول‌های pre-Bکه قادر به عرضه زنجیره سنگین μ غشایی همراه با زنجیـره سـبک جایگزین باشند، می‌توانند مسیر بلوغ را ادامه دهند.



شکل ۴-۱۱: دیاگرام شماتیکی از عرضه پی در پی ایمونوگلبولین غشایی وزنجیره سبک جایگزین در مراحل مختلف تمایز سلول B در مغز استخوان.

برخی محققان معتقدند که پذیرنده سلول pre-B ، پیام ضروری جهـت پیشـرفت تکـوین سلول B را انتقال داده و مانع از بازآرایی V_H به D_HJ_H آلل دیگر زنجیره سنگین می‌شود. در پی استقرار پذیرنده کارآمد سلول pre-B، هر سلول طی چندین تقسیم (شاید ۶ تا ۸) تعـداد ۲۵۶ سلول جدید را تولید می‌کند. سپس هر کدام از این سلول‌ها Pre-B می‌تواننـد قطعـات مختلف زنجیره سبک را بازآرایی کنند وبدین طریق تنوع گنجینه آنتی‌بادی را افزایش دهند.

1- surrogate light chain

www.bbooks.ir

- آزمایشات تخریب ژن و شناسایی عوامل نسخه‌برداری ضروری

اخیراً دوازده عامل نسخه‌برداری شناسایی شده‌اند که در تکوین سلول B نقش دارند. آزمایشاتی که در آن، ژن عوامل نسخه‌برداری تخریب شود، نشان می‌دهد که چهار فاکتور E2A، EBF (فاکتور اولیه سلول B[1]) ، BSAP[2] و Sox-4 در تکوین سلول B ضروری می‌باشند. (شکل ۳-۱۱).

تمام این عوامل روی مراحل اولیه تکوین تاثیر می‌گذارند؛ برخی از آنها نیز در مراحل پایانی فعال می‌شوند. موش‌هایی که سلول‌های B فاقد E2A دارند، RAG-1 را بیان نکرده و قادر به بازآرایی D_HJ_H نمی‌باشند و همچنین فاقد λ5 می‌باشند. یک الگوی مشابه نیز در موش‌های با نقص FBF مشاهده شده است. تخریب ژن Pax-5 (فاکتور نسخه‌برداری BSAP را تولید می‌کند) منجر به سرکوب تکوین سلول B در مراحل ابتدایی می‌گردد. هر چند که جایگاه عمل فاکتور نسخه‌برداری Sox-4 هنوز شناخته نشده است ولی برای مراحل ابتدایی فعال شدن سلول B ضروری است.

- شاخص‌های سطحی سلول، مراحل مختلف تکوین را مشخص می‌کنند

مراحل پیشرفت تکوین از پیش‌ساز تا سلول B بالغ، با تغییر الگوی شاخص‌های سطحی مشخص می‌شود(شکل ۳-۱۱). در مرحله pro-B، سلول‌ها زنجیره‌های سبک و سنگین مولکول آنتی‌بادی و همچنین مولکول‌های Ig-α/ Ig-β را نشان نمی‌دهند؛ اما CD45R را بیان می‌کنند که یک پروتئین تیروزین فسفاتاز سطح لکوسیت‌ها می‌باشد. در سطح سلول‌های pro-B ، CD19،CD43 (لکوسیالین) و CD24 (آنتی‌ژن مقاوم به حرارت یا HAS) عرضه می‌شوند. در این مرحله، c-kit نیز روی سطح سلول‌های pro-B یافت می‌شود. با پیشرفت

۱- early B-cell factor
۲- B-cell specific activator protein

www.bbooks.ir

سلول‌های pro-B به سمت pre-B، سلول همان شاخص‌های مرحله pro-B را بیان می‌کند به جز این که بیان c-kit، CD43 متوقف شده و در عوض بیان زنجیره α پذیرنده IL-2 (CD25) آغاز می‌گردد. آشکار شدن پذیرنده pre-BCR روی سطح سلول از مشخصات مرحله pre-B می‌باشد. پس از بازآرایی زنجیره سبک، ایمونوگلبولین‌های سطحی حاوی هر دو زنجیره سبک و سنگین ظاهر شده و سلول‌ها به عنوان سلول‌های B نا بالغ شناخته می‌شوند که pre-BCR را از دست داده و CD25 را بیان نمی‌کنند.

- سلول‌های B-1 ، زیرگروه خود تجدید شونده سلول‌های B می‌باشند

یک زیر مجموعه از سلول‌های B با نام B-1 پیش از گروه اصلی سلول‌های B به وجود می‌آیند. در انسان و موش سلول‌های B-1 تنها در حدود ۵٪ کل جمعیت سلول‌های B را تشکیل می‌دهند، اما در برخی گونه‌ها مانند خرگوش و حیوانات اهلی، سلول‌هایی با مشخصات B-1 جمعیت اصلی سلول‌های B می‌باشند. سلول‌های B-1 از سلول‌های بنیادی و درطی دوران جنینی به وجود می‌آیند. این سلول‌ها، ایمونوگلبولین‌های غشایی را عرضه می‌کنند ولی اکثر آنها به جای IgG دارای IgM غشایی بوده وفاقد IgD غشایی می‌باشند. برخلاف سلول‌های B (سلول‌های B2)، جمعیت سلول‌های B-1 دست نخورده، خود تجدید شونده بوده و می‌توانند سلول‌های B-1 دست نخورده تولید کنند. سلول‌های B-1 با شاخص CD5 که در سلول‌های T نیز وجود دارد، شناخته می‌شوند ولی یک ترکیب ضروری برای رده B-1 نمی‌باشد. جمعیت اصلی سلول‌های B در حفره‌های صفاق و جنب انسان و موش را سلول‌های B-1 تشکیل می‌دهند.

علاوه بر خود تجدید شوندگی و عرضه CD5، گنجینه نواحی V سلول‌های B-1 بسیار محدودتر از جمعیت B-2 می‌باشد؛ همچنین آنتی‌بادی‌های تولیدی توسط سلول‌های B-1 معمولاً میل پیوندی کمتری نسبت به آنتی‌بادی‌های تولیدی B-1 دارند. این سلول‌ها به احتمال زیاد در پاسخ به آنتی‌ژن‌های کربوهیدراتی فعال می‌شوند، به کمک سلول T نیاز

www.bbooks.ir

نداشته و تمایل اندکی به تمایز به سلول‌های خاطره‌ای از خود نشان می‌دهند. تعویض رده در این سلول‌ها شایع نیست و اغلب آنها حاوی IgM می‌باشند. این جمعیت‌ها همچنین دارای مقادیر اندک و یا فاقد هایپرموتاسیون سوماتیک در ژن‌های ایمونوگلبولین خود می‌باشند و در نتیجه بلوغ میل پیوندی در آنها دیده نمی‌شود. خصوصیات سلول‌های B-1 و B-2 در شکل ۵-۱۱ خلاصه شده است.

Attribute	Conventional B cells (B-2 B cells)	B-1 B cells
Major sites	Secondary lymphoid organs	Peritoneal and pleural cavities
Source of new B cells	From precursors in bone marrow	Self-renewing (division of existing B-1 cells)
V-region diversity	Highly diverse	Restricted diversity
Somatic hypermutation	Yes	No
Requirements for T-cell help	Yes	No
Isotypes produced	High levels of IgG	High levels of IgM
Response to carbohydrate antigens	Possibly	Definitely
Response to protein antigens	Definitely	Possibly
Memory	Yes	Very little or none
Surface IgD on mature B cells	Present on naive B cells	Little or none

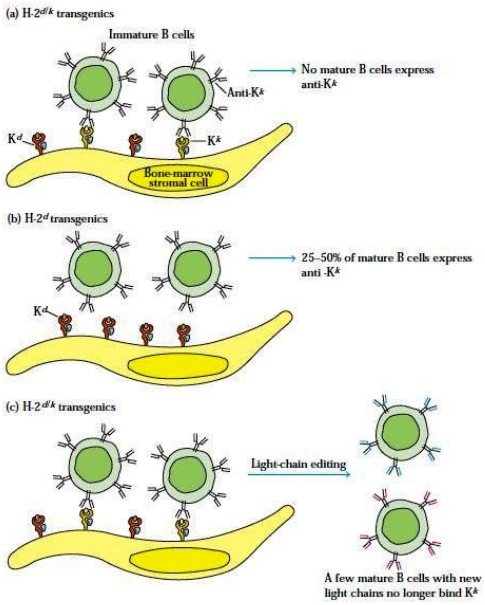
شکل ۵-۱۱: مقایسه سلول های B طبیعی و سلول های B-1. سلول های B طبیعی (معمول) جمعیت عمده این سلول ها را تشکیل داده و گاهی سلول های B-2 خوانده می شوند، زیرا که پس از سلول های B-1 تکوین می یابند.

- سلول‌های B خود واکنشگر در مغز استخوان گزینش می‌شوند

مغز استخوان موش در یک روز حدود ۵×۱۰^{۷} سلول B تولید می‌کند، اما تنها ۵×۱۰^{۶} عدد از آنها وارد ذخیره در گردش سلول B می‌شوند. این امر بدین معنی است که ۹۰٪ سلول‌های B تولیدی، بدون ترک مغز استخوان می‌میرند. بخشی از این کاهش مربوط به گزینش منفی می‌باشد که طی آن سلول‌های B نابالغی که آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن خودی دارند، حذف می شوند.

www.bbooks.ir

اتصال متقاطع mIgM سلول های B نابالغ، منجر بـه مـرگ آپوپتـوزی سـلول‌هـا مـی‌شـود. محققان نشان داده‌اند که تزریق یک ژن انتقالی کد کننده زنجیره سبک و سنگین IgM ویژه k^k (یک مولکول MHC-I از $H\text{-}2^K$) به موش‌های $H\text{-}2^d$ و $H\text{-}2^{d/k}$ (شـکل ۶-۱۱) منجـر بـه میان آنتی‌بادی ترانس ژینک ضد K^K توسط تمامی موش‌های $H\text{-}2^d$ کـه فاقـد K^K هسـتند، می‌شود. در صورتی که موش‌های $H\text{-}2^{d/k}$ که K^Kرا عرضه می‌کنند، آنتی‌بادی ترانس ژنیـک ضد $H\text{-}2^K$ را تولید نمی‌کنند (جدول ۱-۱۱).



شکل ۶-۱۱: شواهد آزمایشگاهی از گزینش منفی (حذف کلونی) سلول های B خودواکنشگر در طی بلوغ در مغز استخوان. (a) حضور یا عدم حضور سلول های B بالغ محیطی که یک IgM کدشده توسط ترانس ژن بر ضد مولکول K^k بیان می کردند، در موش های $H\text{-}2^{d/k}$ و (b) موش های $H\text{-}2^d$ تعیین شد. در موش های $H\text{-}2^{d/k}$ سلول های B نابالغ، آنتی ژن خودی K^k را شناسایی کرده و طی گزینش منفی حذف می شوند. در ترانس ژن های $H\text{-}2^b$ سلول های B نابالغ به آنتی ژن خودی متصل نشده و بالغ می شوند. (c) به نظر می رسد، شمار اندکی از سلول های B نابالغ، متحمل ویرایش مجدد زنجیره سبک که به مولکول K^k متصل نشده و طی گزینش منفی از بین نمی روند.

www.bbooks.ir

TABLE 11-1 Expression of transgene encoding IgM antibody to H-2^k class I MHC molecules

Experimental animal	Number of animals tested	EXPRESSION OF TRANSGENE: As membrane Ab	EXPRESSION OF TRANSGENE: As secreted Ab (μg/ml)
Nontransgenics	13	(–)	<0.3
H-2^d transgenics	7	(+)	93.0
H-$2^{d/k}$ transgenics	6	(–)	<0.3

SOURCE: Adapted from D. A. Nemazee and K. Burki, 1989, *Nature* 337:562.

این نتایج، حاکی از یک گزینش منفی علیه سلول‌های B نابالغ می‌باشد، زیرا واکنش آنتی‌بادی غشایی این سلول‌ها با آنتی‌ژن‌های سطح سلول‌های استروهایی منجر به اتصال متقاطع آنتی‌بادی‌ها و در نتیجه مرگ سلول‌های B نابالغ می‌شود.

- فعال شدن و تکثیر سلول B

پس از خروج سلول‌های B از مغز استخوان، آنها در پاسخ به آنتی‌ژن بافت‌های محیطی، فعال شده و تکثیر و تمایز می‌یابند. فعال شدن با واسطه آنتی‌ژن و گزینش کلونی سلول‌های B دست نخورده، منجر به تولید پلاسماسل‌ها و سلول‌های B خاطره‌ای می‌شود. در غیاب آنتی‌ژن، سلول‌های B دست نخورده عمر کوتاهی داشته و طی چند هفته در اثر آپوپتوز می‌میرند (شکل ۱-۱۱).

- آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس و مستقل از تیموس، نیازهای متفاوتی برای پاسخ‌دهی دارند

با مشاهده مومش‌های nude و اشخاص فاقد تیموس، مشخص شد که بسته به ماهیت آنتی‌ژن، دو روش جهت فعال‌سازی سلول B وجود دارد. محققان دریافتند اگر چه برای پاسخ به اغلب آنتی‌ژن‌ها، حضور تیموس ضروری می‌باشد، ولی در برابر اندکی از آنتی‌ژن‌ها حتی در غیاب تمیوس نیز پاسخ ایجاد می‌شود. آنتی‌ژن‌هایی که پاسخ سلولB را در غیاب این تماس مستقیم فعال کنند، آنتی‌ژن‌های مستقل از تمیوس (نوع Iو II) نامیده می‌شوند و سلول‌های B را از طریق مکانیسم‌های دیگری فعال می‌کنند. برخی از اجزای دیواره سلولی

www.bbooks.ir

باکتری‌ها (LPS) به عنوان نوع I مستقل از تیموس (TI-I) عمل می‌کنند. آنتی‌ژن‌های نوع IIمستقل از تیموس (TI-2) مولکول‌های تکراری مانند پروتئین‌های پلیمری (فلاژلین باکتری‌ها) یا واحدهای تکراری پلی‌ساکارید دیواره سلولی باکتری‌ها می‌باشند.

بیشترآنتی‌ژن‌های TI-1 فعال کننده‌های پلی کلونال سلول B می‌باشند، بدین معنی که قادر به فعال‌سازی سلول‌های B بدون توجه به ویژگی آنتی‌ژنی می‌باشند. مکانیسم عمل آنتی‌ژن TI-1 لیپوپلی ساکارید به خوبی شناخته شده است؛ این ماده، ترکیب اصلی دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که بدون نیاز به سلول‌های T سبب تولید آنتی‌بادی می‌گردد. LPS با دو پذیرنده متفاوت سلول B واکنش می‌دهد: یکی از آنها TLR4 ایمنی ذاتی است و دیگری BCR می‌باشد. تنها شمار اندکی از اعضای جمعیت سلول B دارای BCR ویژه LPS می‌باشند، اما آنها TLR4 را دارند. با فعال‌سازی کلون‌های متفاوت سلول B توسط LPS، مجموعه‌ای از آنتی‌بادی‌های بسیار متنوع بر علیه LPS تولید شده که برخی از آنها ممکن است با باکتری گرم منفی مهاجم واکنش داده و آن را خنثی نمایند.

آنتی‌ژن‌های TI-2 با اتصال متقاطع پذیرنده‌های mIg سبب فعال شدن سلول‌های B می‌شوند. آنتی‌ژن‌های TI-2 از سه جنبه با آنتی‌ژن‌های TI-1 متفاوت می‌باشند. اول، TI-2 میتوژن سلول B نبوده و در نتیجه، پلی کلونال نمی‌باشند؛ دوم، آنتی‌ژن‌های TI-1 هر دو سلول‌های B بالغ و نابالغ را فعال می‌کنند در صورتی که آنتی‌ژن‌های TI-2 تنها سلول‌های B بالغ را فعال می‌کنند و سلول‌های نابالغ را غیر فعال می‌سازند؛ سوم، پاسخ سلول B به آنتی‌ژن‌های TI-2 نیازمند تماس مستقیم سلول‌های T_H نمی‌باشد ولی سایتوکاین‌های مشتق از سلول‌های T_H برای تکثیر کارآمد سلولB و همچنین برای تعویض کلاس به ایزوتایپ‌های غیر از IgM ضروری می‌باشد.

پاسخ هومورال به آنتی‌ژن‌های TI با پاسخ آنتی‌ژن‌های TD متفاوت می‌باشد (جدول ۲-۱۱).

www.bbooks.ir

TABLE 11-2 Properties of thymus-dependent and thymus-independent antigens

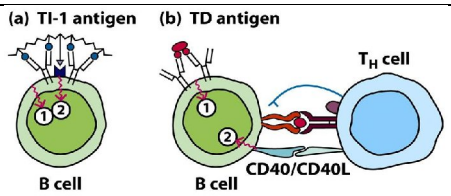
Property	TD antigens	TI ANTIGENS Type 1	TI ANTIGENS Type 2
Chemical nature	Soluble protein	Bacterial cell-wall components (e.g., LPS)	Polymeric protein antigens; capsular polysaccharides
Humoral response			
Isotype switching	Yes	No	Limited
Affinity maturation	Yes	No	No
Immunologic memory	Yes	No	No
Polyclonal activation	No	Yes (high doses)	No

معمولاً پاسخ به آنتی‌ژن‌های TI ضعیف‌تر، بدون تشکیل سلول‌های خاطره‌ای و در بیشتر موارد، آنتی‌بادی ترشح IgM می‌باشد. این تفاوت‌ها نشان می‌دهند که سلول‌های T_H در تولید سلول‌های B خاطره‌ای، بلوغ میل پیوندی و تعویض رده نقش مهمی برعهده دارند.

- برای ورود سلول‌های B به چرخه سلولی، دو نوع پیام لازم است

سلول‌های B دست‌نخورده، در مرحله G0 چرخه سلولی بوده و تکثیر نمی‌یابند. در صورت فعال شدن، سلول‌در حال استراحت به سمت چرخه سلولی پیش می‌رود؛ پیشرفت از میان فاز G1 به فاز S یکی از نقاط حساس در چرخه سلولی می‌باشد. به محض این که سلول به فازS می‌رسد از فاز G2 به میتوز (M)رفته و چرخه سلولی را کامل می‌کند. فعال شدن سلول B برای ورود به چرخه سلولی، به دو سری وقایع انتقال پیام متفاوت نیاز دارد: سری اول تحت عنوان پیام ۱ و سری دوم تحت عنوان پیام ۲ خوانده می‌شوند. این وقایع انتقال پیام، بوسیله مسیرهای مختلف و در پاسخ به آنتی‌ژن‌های TD و TI ایجاد می‌شوند. اما در هر دو مسیر، پیام‌ها در اثر اتصال متقاطع mIgM با آنتی‌ژن چند ظرفیتی تولید می‌شوند (شکل ۷-۱۱).

www.bbooks.ir



شکل ۷-۱۱: یک پیام کارآمد، برای فعال شدن سلول B مستلزم دو پیام متفاوت القا شده با وقایع غشایی می باشد. اتصال آنتی ژن TI-1 به یک سلول B، هر دو پیام را بوجود می آورد. یک آنتی ژن TD پیام ۱ را با اتصال متقاطع IgM بوجود می آورد، اما برهمکنش های دیگری بین CD40 سلول B و CD40L سلول T_H فعال پیام ۲ را ایجاد می کند.

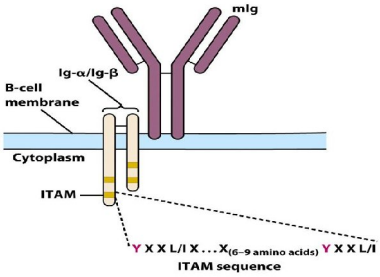
تحریک سلول B؛ پیام ۱ و پیام ۲ (سایتوکاین‌ها و سایر لیگاندها) سبب تمایز آنها به سلول‌های خاطره‌ای یا پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی می‌شود.

- انتقال پیام فعال‌سازی از طریق هترودایمرهای Ig-α/Ig-β صورت می‌گیرد

سال‌های متمادی این سؤال مطرح بود که چگونه تماس ایمونوگلبولین با آنتی‌ژن می‌تواند مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی را فعال کند. تمام ایزوتایپ‌های mIg، دنباله‌های سیتوپلاسمی بسیار کوتاهی دارند. دنباله‌های سیتوپلاسمی mIgM و mIgD تنها ۳ اسیدآمینه دارند. دم mIgA شامل ۱۴ اسید آمینه و دم‌های mIgE و mIgG شامل ۲۸ اسید آمینه می‌باشد. در تمام موارد، دم سیتوپلاسمی کوتاه‌تر از آن است که بتواند با مولکول‌های انتقال دهنده پیام مثل تیروزین کینازها و پروتئین‌های G اتصال برقرار کند. با مشخص شدن این که پذیرنده سلول B از mIgهای همراه با هترودایمر Ig-α/Ig-β با یک مولکول mIg برای تشکیل مجموعه پذیرنده شرکت دارد (شکل ۸-۱۱). بنابراین، BCR از یک مولکول ایمونوگلبولین و یک هترودایمر Ig-α/ Ig-β تشکیل شده است. این امر در مورد

www.bbooks.ir

pre-BCR نیز صادق است، بدین صورت که یک مجموعه حاوی هترودایمر Ig-α/ Ig-β و زنجیره‌های سنگین μ درترکیب با زنجیره سبک جانشین، انتقال پیام را برعهده دارد (شکل ۴-۱۱). دنباله سیتوپلاسمی زنجیره Ig-α حاوی ۶۱ اسیدآمینه و دم زنجیره Ig-β دارای ۴۸ اسیدآمینه می‌باشد. دم‌های سیتوپلاسمی Ig-αو Ig-β حاوی ۱۸ موتیف با نام موتیف تیروزینی فعال کننده پذیرنده ایمنی (ITAM) می‌باشند (شکل ۸-۱۱). این موتیف‌ها در چندین مولکول در TCR نیز حضور دارند (شکل ۱۱-۱۰).



شکل ۸-۱۱: پذیرنده سلول B متشکل از Ig غشایی همراه با هترودایمر Ig-α و Ig-β می باشد.

تیروزین = (Y)

لوسین/ ایزولوسین = (L/I)

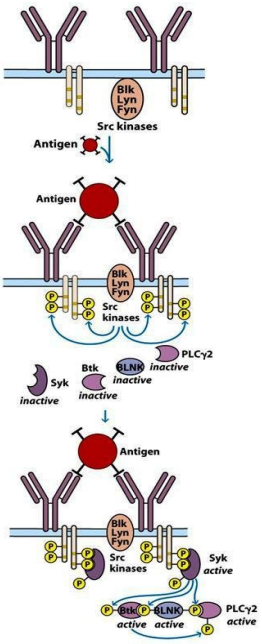
یک نوع اسیدآمینه = (X)

- انتقال پیام سلول B به واسطه اتصال به آنتی‌ژن و تحریک چندین مسیر انتقال پیام شروع می‌شود.

اتصال متقاطع BCR به واسطه آنتی‌ژن، فرآیندهای انتقال پیام را فعال کرده و سبب فعال شدن سلول B می‌شود. همان‌طور که شکل۹-۱۱ نشان می‌دهد، اتصال به آنتی‌ژن، منجر به فسفریلاسیون تیروزین‌کینازهای ITAM موجود در زنجیره‌های Ig-α وIg-β می‌شود. فسفریلاسیون این زنجیره‌ها توسط PTKهای همراه پذیرنده، یکی از ابتدایی‌ترین وقایع فعال شدن سلول B می‌باشد و در ایجاد مکان لنگری برای سایر مولکول‌ها نقش اساسی بر عهده

www.bbooks.ir

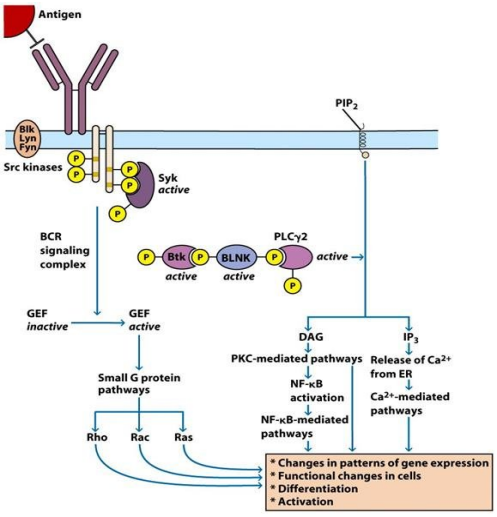
دارد. این مولکول‌ها شامل پروتئین کیناز syk و یک پروتئین تطبیق‌گر به نام BLNK می‌باشد که جایگاه اتصال سایر پروتئین‌ها به مجموعه انتقال پیام را فراهم می‌کند. زمانی که BLNK توسط sky فسفریله می‌گردد، این پروتئین اتصالی سبب جذب تیروزین کیناز بروتون (Btk) و PLCγ2 می‌شود. این مرحله برای فعال شدن پیام‌های ناشی از کلسیم وابسته به فسفرلیپاز C و آغاز مسیرهای وابسته به PKC ضروری می‌باشد.



شکل ۹-۱۱: شروع مسرهای انتقال پیام به فعال شدن سلول B منجر می شود. (a) یک سلول B در حال استراحت، اجزای لازم جهت شروع انتقال پیام BCR غیرفعال می باشد. (b) اتصال متقاطع مجموعه های BCR موجب راه اندازی فسفریلاسیون ITAM های Ig-α و Ig-β توسط پروتئین تیروزین کینازها (مثل Src، Lyn، Blk و Fyn) می شود. فسفریلاسیون، جایگاه های اتصال syk را بوجود می آورد. (c) syk فعال شده پروتئین تطابقی BLNK را فسفریله کرده و جایگاه های اتصال PLCγ2 و Btk را به وجود می آورد و در نتیجه فسفوریلاسیون، موجب فعالیت پروتئین کینازی این عوامل می شود.

www.bbooks.ir

این مرحله آغازین موجب تحریک سلسله وقایعی می‌شود که بسیاری از آبشارهای انتقال پیام ضروری برای فعال شدن سلول B را تحریک می کنند.



شکل مروری ۱۰-۱۱: برخی مسیرهای انتقال پیام که با BCR فعال می شوند.

همان‌طور که شکل ۱۰-۱۱ نشان می‌دهد، این آبشارهای انتقال پیام، مسیرهای پروتئین G، مسیرهای با واسطه کلسیم ومسیرهای با واسطه PKC را فعال می‌کنند. تمام این مسیرها در فعال سازی سلول T نیز دخیل می باشند. از بین شباهت‌های انتقال پیام در BCR و TCR موارد زیر جالب توجه می‌باشند:

- تقسیم وظایف بین زیر واحدهای گیرنده: مسیرهای انتقال پیام سلول T و سلولB، هر دو با اتصال آنتی‌ژن به یک زیر واحد و انتقال پیام توسط یک زیر واحد دیگر آغاز می‌شوند. واحد متصل شونده به آنتی‌ژن ویژگی داشته اما دم‌سیتوپلاسمی آن به حدی کوتاه است که نمی‌تواند پیام‌ها را به داخل سلول انتقال دهد؛ واحدهای پیام‌رسان، دم‌های سیتوپلاسمی بلندی داشته و قادرند تا پیام‌های مجموعه پذیرنده را به داخل سلول منتقل کنند.

www.bbooks.ir

- فعال شدن با واسطه پروتئین تیروزین کینازهای src همراه پذیرنده: PTK های همراه پذیرنده، واکنش‌های فسفریلاسیون را کاتالیز می‌کنند که در مراحل اولیه انتقال پیام ضروری می‌باشند.
- تجمع مجموعه بزرگ انتقال پیام که فعالیت پروتئین تیروزین کینازی دارد. فسفریلاسیون تیروزین‌های ITAM موجود در BCR و TCR به عنوان تکیه گاهی برای مولکول‌های با خاصیت تیروزین کینازی (ZAP-70 در سلول‌های T و syk در سلول‌های B) عمل می‌کنند.
- فراخوانی سایر مسیرهای انتقال پیام: فعال شدن سلول‌های B و T نیازمند فعال‌شدن همزمان بسیاری از مسیرهای مختلف انتقال پیام می‌باشد و در نتیجه، تنها یک مسیر انتقال پیام وجود ندارد.
- تغییر میزان بیان ژن‌ها: یکی از پیامدهای انتقال پیام توسط TCR و BCR، تولید یا انتقال عوامل نسخه‌برداری می‌باشد که نسخه برداری از برخی ژن‌ها را سرکوب یا تحریک می‌کنند.

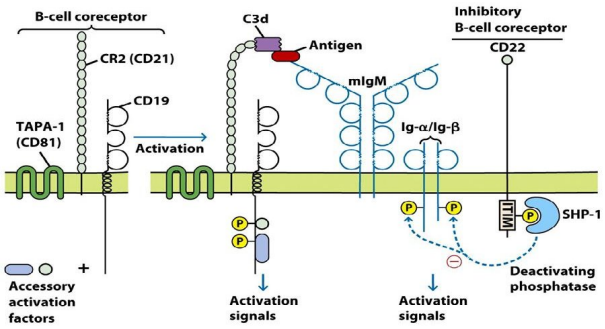
نقص در انتقال پیام می‌تواند نتایج وخیمی در سیستم ایمنی داشته باشد.

- پاسخ سلول B توسط BCR افزایش و توسط CD22 کاهش می‌یابد

با پیام ناشی از کمک پذیرنده، تحریک پذیرنده‌های آنتی ژنی دستخوش تغییر می‌شود. در سلول B، یک ترکیب غشایی که کمک پذیرنده سلول B نامیده می‌شود، به صورت تحریکی، سبب تغییر انتقال پیام شده و پروتئین غشایی دیگر (CD22) پیام‌های مهاری را تولید می‌کند. کمک پذیرنده سلولB، مجموعه‌ای از سه پروتئین CD19، CR2 (CD21) و TAPA-1 (CD81) می‌باشد(شکل ۱۱-۱۱). CD19 عضو کلیدی این مجموعه بوده و یک مکان لنگری برای سایر مولکول‌های دخیل در انتقال پیام را ایجاد می‌کند. جزءCR2 ، پذیرنده C3b بوده و همچنین برای مولکول های غشایی و پروتئین غشاگذر TAPA-1 به

www.bbooks.ir

عنوان پذیرنده عمل می‌کند. همان‌طور که شکل ۱۱-۱۱ نشان می‌دهد، ترکیب CR2 مجموعه کمک پذیرنده به آنتی‌ژن پوشیده شده با کمپلمان متصل می‌شود که توسط mIg سلول B به دام افتاده است. این اتصال متقاطع کمک پذیرنده با BCR ، به CD19 امکان می‌دهد تا بـــا اجـــزای Ig-α/Ig-β واکنش دهد. CD19 حاوی ۶ واحد تیروزین در دم سیتوپلاسمی خود بوده و یکی از سوبستراهای اصلی فعالیت پروتئین تیروزین کینازهای BCR می‌باشد.



شکل ۱۱-۱۱: BCR مجموعه ای از سه مولکول غشایی TAPA-1 (CD81)، CR2 (CD21) و CD19 می باشد. فسفریلاسیون و اتصال جزء CD19 به این مجموعه موجب شکل گیری پیام های دیگری جهت فعال شدن سلول B می گردد.

با فراخوانی این مولکول‌های انتقال‌دهنده پیام به مجموعه BCR، آنها در فرآیندهای فعال‌سازی شرکت می‌کنند و مجموعه کمک پذیرنده به عنوان تقویت کننده پیام‌های انتقال یافته از BCR عمل می‌کنند. همان‌طور که بعداً در همین فصل توضیح داده می‌شود، پاسخ به یک آنتی‌ژن می‌تواند منجر به بلوغ میل پیوندی شود که در نتیجه آن میانگین میل پیوندی BCR افزایش می‌یابد. در نهایت این که، دو مشاهده تجربی نشان می‌دهد که جزء CD19 کمک پذیرنده سلول B می‌تواند مستقل از CR2 عمل کند. در موش‌های طبیعی، اتصال متقاطع مصنوعی بین BCR با آنتی‌بادی‌های ضد CD19 ، منجر به تحریک برخی از مسیرهای انتقال پیام می‌شود. فعال شدن سلول B موش‌های با ژن تخریب شده

www.bbooks.ir

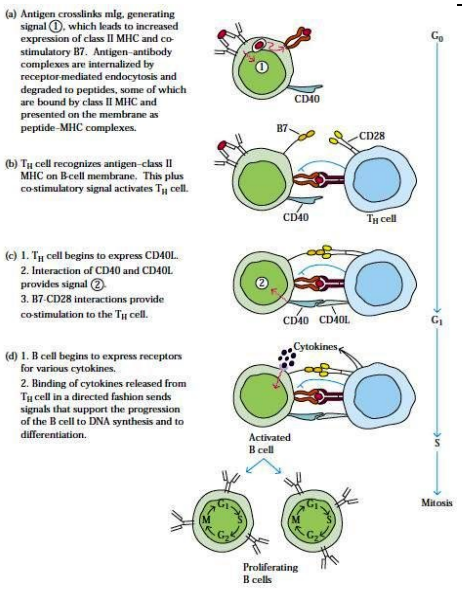
CD19 ، به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و کاهش چشمگیری در ایجاد پاسخ آنتی‌بادی به اغلب آنتی‌ژن‌ها را نشان می‌دهند.

علاوه بر کمک پذیرنده تحریکی CD19 ، مولکول CD22 که به طور ساختاری همراه با BCR سلول‌های در حال استراحت می‌باشد، پیام مهاری را انتقال می‌دهد (شکل ۱۱-۱۱). فعال شدن سلول‌های B منجر به فسفوریلاسیون توالی تیروزینی مهار کننده ایمنی (ITIM) در دم سیتوپلاسمی CD22 می‌شود. در این حال، یک تیروزین فسفاتاز به ITIM های CD22اتصال می‌یابد و فسفات موجود در تیروزین‌های مجموعه انتقال پیام مجاور را جدا می‌کند.میزان فعالیت سلول B ، تا حدودی در موش‌های با ژن تخریب شده CD22 افزایش یافته و میزان بیماری‌های خود ایمنی در موش‌های پیر CD22ko (ژن تخریب شده) افزایش می‌یابد، که نشان دهنده اهمیت این تنظم منفی می‌باشد.

- نقش ضروری سلول‌های T_H در بیشتر پاسخ‌های سلول B

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، فعال‌سازی سلول‌های B توسط آنتی‌ژن‌های پروتئینی محلول، نیازمند دخالت سلول‌های T_H می‌باشد. اتصال آنتی‌ژن به mIg سلول‌های B به تنهایی نمی‌تواند سبب تکثیر و تمایز آن به سلول‌های اجرایی شود ونیازمند واکنش با مولکول‌های غشایی سلول T_H و حضور سایتوکاین های مناسب می‌باشد (شکل ۱۲-۱۱). این فرآیند به طور شگرفی پیچیده‌تر از فعال شدن سلول B توسط آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس (TI) می‌باشد.

www.bbooks.ir



شکل ۱۲-۱۱: سلسله وقایع فعال شدن سلول B توسط آنتی ژن وابسته به تیموس.

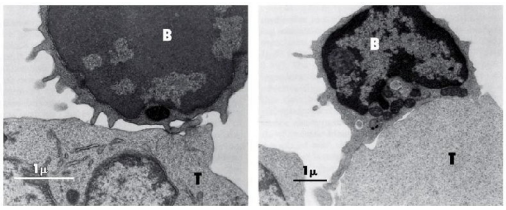
- تشکیل کونژوگه T-B

پس از اتصال آنتی‌ژن به mIg سطح سلول‌های B، آنتی‌ژن توسط اندوسیتوز با واسطه پذیرنده به درون کشیده شده و از طریق مسیر اندوسیتوزی به پپتیدهای کوچک پردازش می‌شود. همچنین اتصال به آنتی‌ژن، پیام‌هایی را به راه می‌انداز که سبب افزایش بیان تعدادی از مولکول‌های غشایی مثل MHCکلاس II و کمک محرک B7 می‌شود (شکل ۱۲-۱۱). افزایش عرضه این مولکول‌ها، توانایی سلول B را به عنوان یک APC جهت فعال‌سازی سلول T_H بالا می‌برد. سلول‌های B می‌توانند تحت حمایت T_H قرار بگیرند، زیرا پپتیدهای آنتی‌ژن همراه با مولکول‌های MHC-II روی سطح سلول B جهت فعال‌سازی سلول T_H عرضه می‌شوند. معمولاً ۳۰ تا ۶۰ دقیقه پس از بلع آنتی‌ژن، پپتیدهای آنتی‌ژنی پردازش شده و همراه بامولکول‌های MHC-II روی غشای سلول B عرضه می‌شوند.

www.bbooks.ir

بدلیل این که سلول‌های B آنتی‌ژن را به طور اختصاصی شناسایی می‌کنند. یک سلول B قادر است آنتی‌ژن را در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰ بار کمتر از مقدار مورد نیاز برای عرضه آنتی‌ژن توسط ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک به سلول‌های T_H عرضه کند. وقتی غلظت آنتی‌ژن بالا باشد، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک، سلول‌های اصلی عرضه آنتی‌ژن می‌باشند.

زمانی که سلول T_H، پپتید آنتی‌ژنی عرضه شده توسط مولکول MHC-II سطح سلول B را شناسایی می‌کند، دو سلول برای تشکیل کونژوگه B-T با یکدیگر واکنش می‌دهند (شکل ۱۳-۱۱).



شکل ۱۳-۱۱: میکروگراف های الکترونی گزاره از تماس اولیه بین یک سلول T و یک سلول B (سمت چپ) و یک کونژوگه B-T (سمت راست).

- تماس کمکی، وابسته به واکنش CD40/ CD40L می‌باشد

تشکیل کونژوگه T-B نه تنها منجر به رهایی مستقیم سایتوکاین‌های سلول T_H می‌شود، بلکه سبب افزایش بیان تنظیمی CD40L (CD154) نیز می‌شود که با CD40 سطح سلول B واکنش داده و یک پیام ضروری جهت فعال‌شدن سلول B وابسته به سلولT را موجب می‌شود. CD40، متعلق به پروتئین‌های سطحی سلول و سایتوکاین‌های محلول خانواده TNF می‌باشد که تکثیر مرگ با واسطه آپوپتوز سلول را تنظیم می‌کند. CD40L متعلق به خانواده پذیرنده TNF می‌باشد. واکنش CD40/CD40L پیامی را به سلول B می‌فرستد (پیام ۲) که با پیام تولید شده به واسطه اتصال متقاطع mIg (پیام ۱) موجب ورود سلول B

www.bbooks.ir

به فاز G1 می‌گردد(شکل ۱۲-۱۱). پیام ناشی از CD40 ، توسط شماری از مسیرهای انتقال پیام داخلی سلولی منتقل شده و در نهایت منجر به تغییر بیان ژن‌ها می‌گردد.

- پیام‌های ایجاد شده توسط سایتوکاین‌های سلول T_H

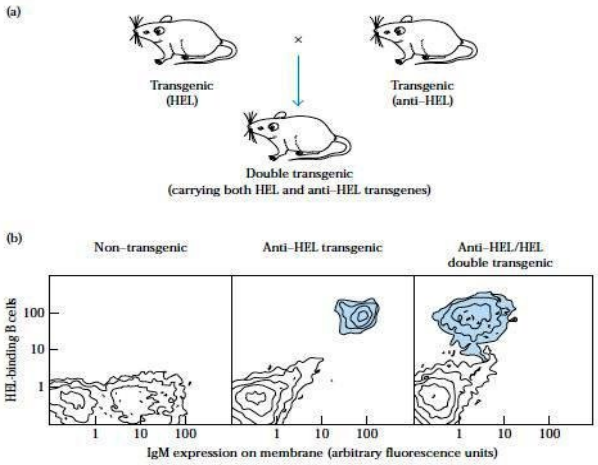
اگر چه سلول B تحریک شده، با اتصال به پروتئین‌های غشایی سلول‌های T_Hفعال،تکثیر می‌یابند ولی تا زمانی که در معرض سایتوکاین‌ها قرار نگیرند، توانایی تمایز ندارند. این یافته‌ها حاکی از آن است که هر دو پیام‌های تماس غشایی و سایتوکاین، جهت تکثیر و تمایز سلول B ضروری می‌باشند. سلول B به محض فعال شدن، پذیرنده‌های غشایی سایتوکاین‌های مختلف مثل IL-2، IL-4 و IL-5 را عرضه می‌کند. سپس این پذیرنده‌ها به سایتوکاین‌های تولیدی توسط سلولT_H فعال، متصل می‌شوند. پیام‌های ناشی از این پذیرنده‌ها، سبب تقویت تکثیر سلولB شده و می‌تواند سبب تمایز آنها به سلول‌های خاطره‌ای و پلاسماسل و همچنین سبب تعویض رده و بلوغ میل پیوندی شود.

- سلول‌های B خود واکنشگر، طی گزینش منفی محیطی حذف می‌شوند

به دلیل این که برخی از آنتی‌ژن‌های خودی در مغز استخوان بیان نمی‌شوند، سلول‌های B عرضه کننده mIgM ویژه این آنتی‌ژن‌ها نمی‌توانند با گزینش منفی مغز استخوان، حذف شوند. برای اجتناب از چنین سلول‌هایB بالغ خود واکنشگری، آنها می‌بایست طی مراحلی که در اعضای لنفاوی ثانویه رخ می‌دهد، حذف یا غیر فعال شوند.

www.bbooks.ir

یک سیستم ژن انتقالی ایجاد شده توسط گودنو[1] و همکارانش، مراحل گزینش منفی محیطی سلول‌های B بالغ را آشکار نمود. این سیستم شامل دو گروه موش ترانس ژنیک بود (شکل ۱۴-۱۱).



شکل ۱۴-۱۱: سیستم آزمایشگاهی Goodnow برای اثبات آنرژی کلونی در سلول های B بالغ محیطی. (a) تولید موش های ترانس ژن مضاعف حامل ترانس ژن های حامل HEL و آنتی بادی ضد HEL. (b) آنالیز فلوسایتومتری سلول های B محیطی که به HEL متصل می شوند.

یک گروه حاوی ژن لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ (HEL) متصل به پروموتر متالوتیونین بودند، تا رونویسی ژن HEL با میزان حضور فلز روی در محیط، تحت کنترل باشد. گروه دیگر موش‌های ترانس ژنیک حامل ژن‌های بازآرایی شده زنجیره سبک و سنگین کدکننده آنتی‌بادی ضد HEL بودند. در موش‌های طبیعی فراوانی سلول‌های B واکنشگر با HEL، یک در هزار سلول می‌باشد، اما در این موش‌های ترانس ژنیک، ترانس‌ژن بازآرایی شده ضد HEL توسط ۶۰ تا ۹۰ درصد سلول‌های B بالغ محیطی عرضه می‌شوند. گودنو اجازه داد دو

1- Goodnow

www.bbooks.ir

گروه با یکدیگر جفت‌گیری کنند؛ در نتیجه زاده‌ها دارای هر دو ترانس ژن anti-HEL و HEL بودند.

یافته‌های جالبی از گزینش منفی سلول‌های B به دست آمد (جدول ۳-۱۱).

TABLE 11-3 Expression of anti-HEL transgene by mature peripheral B cells in single and double-transgenic mice

Experimental group	HEL level	Membrane anti-HEL	Anti-HEL PFC/spleen*	Anti-HEL serum titer*
Anti-HEL single transgenics	None	+	High	High
Anti-HEL/HEL single transgenics (Group 1)	10^{-9} M	+	Low	Low

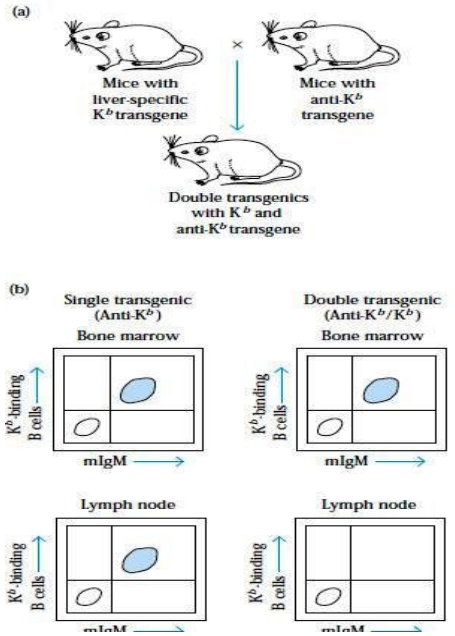
* Experimental animals were immunized with hen egg-white lysozyme (HEL). Several days later, hemolytic plaque assays for the number of plasma cells secreting anti-HEL antibody were performed and the serum anti-HEL titers were determined. PFC = plaque-forming cells; see Figure 23-1 for a description of the plaque assay.

SOURCE: Adapted from C. C. Goodnow, 1992, *Annu. Rev. Immunol.* 10:489.

موش‌های ترانس ژنیک مضاعف با میزان بالای عرضه HEL (10^{-9} M)بالغ شدند، سلول‌های B محیطی دارای آنتی‌بادی غشایی ضد HEL بودند ولی این سلول‌ها از لحاظ عملکردی غیرفعال بودند. تحلیل‌های فلوسایتومتری سلول‌های B موش های ترانس ژنیک مضاعف، نشان داد که اگرچه تعداد سلول‌های آنرژیک ضد HEL بسیار زیاد می‌باشد ولی میزان عرضه IgM در آنها ۲۰ برابر کمتر از موش‌های تک ترانس ژنیک ضد HEL می‌باشد (شکل ۱۵-۱۱).

مطالعات بیشتر نشان داد که ترانس ژنیک‌های دوتایی، هر دو IgM و IgD غشایی را داشتند و این امر حاکی از آن است که آلرژی در سلول‌های B بالغ بیشتر از سلول‌های نابالغ القا شده است. هنگامی که این موش‌ها با یک دوز HEL ایمن شدند، پلاسماسل‌های ضد HEL به میزان کمی تحریک شده و تیتر سرمی anti-HEL پایین بود.

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۱۱: اثبات آزمایشگاهی حذف کلونی سلول های B بالغ محیطی و خودواکنشگر. (a) ایجاد موش های ترانس ژن مضاعف که مولکول کلاس یک K^d و آنتی بادی ضد آن را عرضه می کنند. (b) آنالیز فلوسایتومتری سلول های B مغزاستخوان و محیطی موش که به mIgM متصل می شوند.

- پاسخ هومورال

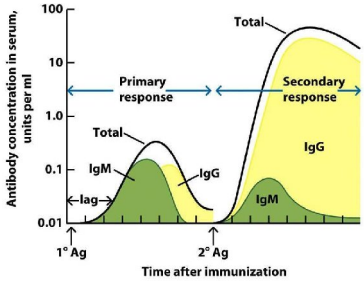
در این بخش راجع به تفاوت میان پاسخ‌های اولیه و ثانویه و کاربرد کونژوگه‌های هاپتن – حامل در بررسی پاسخ هومورال بحث خواهیم کرد.

- تفاوت پاسخ‌های اولیه و ثانویه

اولین تماس فرد با یک آنتی‌ژن بیگانه، سبب ایجاد پاسخ هومورال اولیه می‌شود که مشخصه آن تولید پلاسماسل‌های ترشح‌کننده آنتی‌بادی و سلول‌های B خاطره‌ای می‌باشد. سرعت پاسخ اولیه به ماهیت آنتی‌ژن، روش تزریق آنتی‌ژن، حضور یا عدم حضور ادجوانت

www.bbooks.ir

و سویه ایمن شده بستگی دارد. با این حال، پاسخ اولیه به آنتی‌ژن در تمام موارد با یک فاز تأخیری (مدت زمان لازم جهت گزینش کلونی سلول‌های B دست نخورده)، در پی آن گسترش کلونی و سپس تمایز به سلول‌های خاطره‌ای یا پلاسماسل‌ها مشخص می‌شود (شکل ۱۶-۱۱).



شکل مروری ۱۶-۱۱: غلظت و ایزوتایپ آنتی بادی سرم به دنبال ایمونیزاسیون اولیه و ثانویه با آنتی ژن. غلظت های آنتی بادی با مقیاس لگاریتمی به صورت نقطه نشان داده شده است.

فاز تأخیری با افزایش لگاریتمی میزان آنتی‌بادی سرم که به حداکثر رسیده و برای مدتی ثابت مانده و سپس کاهش می‌یابد، دنبال می‌شود. مدت زمان فاز تأخیری به ماهیت آنتی‌ژن بستگی دارد.

سلول‌های B که طی پاسخ اولیه تشکیل می‌شوند، وارد فاز G0 چرخه سلولی شده و دیگر تقسیم نمی‌شوند. این سلول‌ها طول عمر متغیری داشته و برخی تا پایان عمر فرد باقی می‌مانند. ظرفیت ایجاد پاسخ هومورال ثانویه (شکل ۱۴-۱۱). به حضور جمعیت سلول‌های B خاطره‌ای بستگی دارد. فعال شدن سلول‌های خاطره‌ای توسط آنتی‌ژن منجر به پاسخ آنتی‌بادی ثانویه می‌شود که می‌تواند از پاسخ اولیه به چند طریق متمایز شود (جدول ۴-۱۱).

www.bbooks.ir

TABLE 11-4 Comparison of primary and secondary antibody responses

Property	Primary response	Secondary response
Responding B cell	Naive (virgin) B cell	Memory B cell
Lag period following antigen administration	Generally 4–7 days	Generally 1–3 days
Time of peak response	7–10 days	3–5 days
Magnitude of peak antibody response	Varies depending on antigen	Generally 100–1000 times higher than primary response
Isotype produced	IgM predominates early in the response	IgG predominates
Antigens	Thymus-dependent and thymus-independent	Thymus-dependent
Antibody affinity	Lower	Higher

عامل اصلی در شروع سریع‌تر و بیشتر پاسخ ثانویه، تعداد بیشتر جمعیت سلول‌های B خاطره‌ای نسبت به سلول‌های دست نخورده می‌باشد. سلول‌های خاطره‌ای بسیار ساده‌تر از سلول‌های B بکر فعال می‌شوند. فرآیندهای بلوغ میل پیوندی و تعویض رده، مسئول میل پیوندی بالا و ایزوتایپ‌های مختلف مشاهده شده در پاسخ ثانویه می‌باشند.

حضور سلول‌های B خاطره‌ای با عمر بالا، مسئول پدیده‌ای به نام «گناه آنتی‌ژن اصلی[1]» می‌باشد که برای اولین بار در پاسخ آنتی‌بادی علیه واکسن آنفولانزا در افراد بالغ مشاهده شد. مشاهدات نشان دادند که ایمونیزاسیون با واکسن آنفولانزا از یک سویه، پاسخ آنتی‌بادی علیه آن سویه را تحریک می‌کنند، اما به طور باور نکردنی یک پاسخ آنتی‌بادی با شدت بیشتر برای سایر سویه‌های آنفولانزا که افراد در طول دوران کودکی با آنها مواجه شده بودند نیز تحریک می‌شود. گویا خاطره اولین برخورد با آنتی‌ژن، در سیستم ایمنی باقی مانده است. این پدیده را می‌توان این‌چنین توضیح داد که این توپ‌های سویه واکسن با جمعیت سلول‌های خاطره‌ای، واکنش متقاطع می‌دهند. این روند، پاسخ ثانویه‌ای را تولید می‌کند که مشخصه آن تولید آنتی‌بادی با میل پیوندی بالاتر برای سویه ویروس قبلی است.

1- original antigenic sin

www.bbooks.ir

تمرکز بالینی

آگاماگلبولنیمی وابسته به جنس: نقص در انتقال پیام و تکوین سلول B

XLA یک بیماری نقص ایمنی ژنتیکی است که با ناتوانی در تولید تمام رده‌های آنتی‌بادی مشخص می‌شود. این بیماری که در سال ۱۹۵۲ توسط بروتون کشف شد، هنوز هم یکی از مسائل برجسته در تحقیقات ایمونولوژی بالینی می‌باشد. بروتون پسر جوانی را بررسی می‌کرد که ۳ بار به اوریون مبتلا شده بود و ۱۹ مورد مختلف از عفونت‌های باکتریایی را طی تنها ۴ سال تجربه کرده بود. بدلیل این که در ۱۰مورد از این عفونت‌ها، باکتری‌جدا شده از خون، پنوموکوک بود، بروتون به ایمونیزاسیون توسط واکسن پنوموکوک، مبادرت ورزید. با شکست تلاش‌ها جهت تحریک پاسخ‌های آنتی‌بادی، بروتون تصمیم گرفت نشان دهد که آیا این بیماری می‌تواند در مواجهه با سایر آنتی‌ژن‌ها پاسخ آنتی‌بادی ایجاد نماید یا خیر. به طور شگفت‌انگیزی، ایمونیزاسیون این بیمار با واکسن‌های دیفتری و تیفوئید منجر به تحریک هیچ‌گونه پاسخ هومورالی نگردید. در پی شناخت این نقص ایمنی که در آن آنتی‌بادی حضور ندارد، بروتون تصمیم گرفت با یک درمان جدید متهورانه هرماه، دوزهایی از گلبولین افراد ایمن را به بیمار تزریق کند. بیمار یک دوره ۱۴ ماهه را بدون سپسیس باکتریایی گذراند و جایگزینی Ig برای درمان این نقص ایمنی پایه‌گذاری شد.

بیماری آگاماگلبولنیمی بروتون یا وابسته به جنس خصوصیات بالینی زیر را نشان می‌دهد.

- بیشتر افراد مبتلا، مذکر می‌باشند، زیرا نقص وابسته به کروموزومX می‌باشد.
- نشانه‌های نقص ایمنی ۹ ماه پس از تولد بروز می کنند.
- عفونت بااسترپتوکوک پنومونیه و هموفیلوس آنفولانزا از شیوع بالایی برخوردار می‌باشند. در این بیماران، پنومونی، سینوزیت، منژیت یا سپتی‌سمی باکتریال مشاهده می‌شود.

www.bbooks.ir

- با وجود این که معمولاً ابتلا به عفونت‌های ویروسی شدیدتر از افراد طبیعی نمی‌باشد ولی معمولاً ایمنی طولانی مدت ضد ویروسی در آنها ایجاد نمی‌شود.
- تحلیل‌های میکروسکوپی و فلوسایتومتری نشان می‌دهند که سلول‌های B بالغ در خون محیطی بسیار ناچیز بوده یا اصلاً وجود ندارند. در اوایل سال ۱۹۹۰، ژن مسئول XLA کلون شد. همتای طبیعی این ژن، یک پروتئین تیروزین کیناز را کد می‌کند که به پاس قدردانی از زحمات بروتون، تیروزین کیناز بروتون (Btk) نامگذاری شد. مطالعات همزمان در موش‌ها، نشان داد که فقدان Btk موجب سندرم Xid می‌شود که معادل XLA انسانی می‌باشد. این مولکول نقش مهمی در انتقال پیام سلول B برعهده دارد. مطالعات آزمایشگاهی روی کشت سلول‌هایی که ژن Btk آنها تخریب شده‌است، نشان می‌دهد که فعالیت PLCγA آنها نقص دارد. زمانی کهPLCγA فعال می‌شود، سبب هیدرولیز فسفولیپیدهای غشایی شده و پیامبرهای ثانویه قوی IP3 و DAG را رها می‌سازد. بنابراین، Btk سبب فعال‌سازی شبکه‌ای از پیام‌های داخل سلولی در سلول‌های B بالغ و اعضای ابتدایی دودمان سلول B می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهند که Btk متعلق به خانواده پروتئین تیروزین کینازهایی با نام کینازهای Tec می‌باشد که Itk همتای آن در سلول‌های Tمی‌باشد.
-

- سلول‌های T_H نقش حیاتی در پاسخ هومورال به کونژوگه‌های هاپتن- حامل دارند

ایمونیزاسیون حیوانات با ترکیبات آلی کوچک (هاپتن‌ها) که با پروتئین‌های بزرگ (حامل) کونژوگه شده‌اند، سبب ایجاد پاسخ هومورال شامل آنتی‌بادی ضداپی‌توپ‌های هاپتن و اپی‌توپ‌های سطح پروتئین می‌شود. کونژوگه‌های هاپتن – حامل متنوعی در تحقیقات ایمنی استفاده می‌شوند.(جدول ۵-۱۱).

www.bbooks.ir

TABLE 11-5 Common hapten-carrier conjugates used in immunologic research

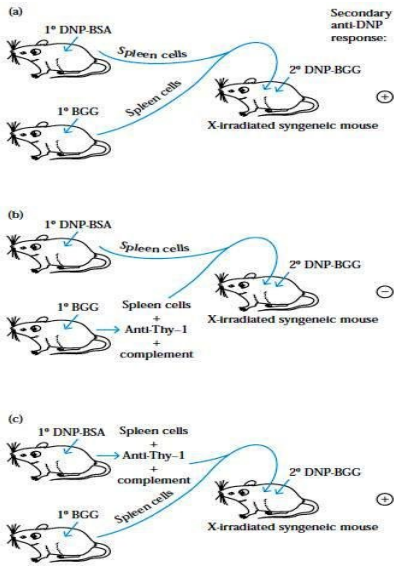
Hapten-carrier acronym	Hapten	Carrier protein
DNP-BGG	Dinitrophenol	Bovine gamma globulin
TNP-BSA	Trinitrophenyl	Bovine serum albumin
NIP-KLH	5-Nitrophenyl acetic acid	Keyhole limpet hemocyanin
ARS-OVA	Azophenylarsonate	Ovalbumin
LAC-HGG	Phenyllactoside	Human gamma globulin

یکی از اولین یافته‌ها با استفاده از کونژوگه‌های هاپتن – حامل این بود که برای تحریک پاسخ هومورال به هاپتن، بایستی هاپتن به طریق شیمیایی به مولکول بزرگ حامل اتصال یابد. اگر یک حیوان به طور جداگانه با هاپتن و حامل ایمن شود، آنتی‌بادی ضد هاپتن بسیار اندک بوده و یا اصلاً تولید نخواهد شد. دومین مشاهده مهم این بود که به منظور تولید پاسخ آنتی‌بادی ثانویه علیه هاپتن، بایستی ایمونیزاسیون حیوان با همان کونژوگه هاپتن – حاملی انجام شود که در ایمونیزاسیون اولیه استفاده شده بود. اگر ایمونیزاسیون ثانویه با همان هاپتن و حامل متفاوت انجام گیرد، پاسخ ثانویه ضد هاپتن رخ نمی‌دهد. این پدیده که اثر حامل[1] نامیده می‌شود، می‌تواند با آماده سازی جداگانه حیوان با حامل غیر مرتبط از بین برود.

آزمایش‌های باکونژوگه‌های هاپتن – حامل آشکار نمود (شکل ۱۷-۱۱) که هر دو سلول B و T بایستی شاخص‌های آنتی‌ژنیک یک مولکول را شناسایی کنند تا فعال‌سازی سلول B صورت گیرد. این واکنش سلول B و T در پاسخ هومورال، شناخت همراه (مرتبط) نامیده می‌شود.

1- carrier effect

www.bbooks.ir



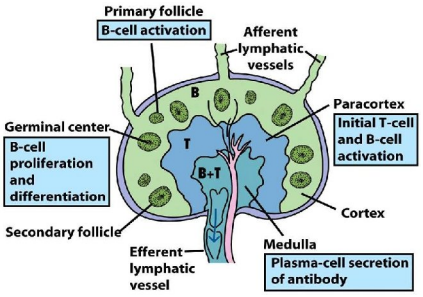
شکل ۱۷-۱۱: آزمایشات انتقال سلولی که اثبات می کند سلول های آلوده با هاپتن و آلوده با ناقل دو جمعیت سلولی مختلف می باشند.

- مکان‌های in vivo برای تحریک پاسخ‌های هومورال

فعال‌سازی و تمایز سلول‌های B در in vivo در مکان‌های آناتومیک مشخص صورت می‌گیرد که ساختار این مکان‌ها با نوع واکنش‌های سلولی همخوانی دارد. زمانی که آنتی‌ژن به داخل بدن تزریق می‌شود، در اعضای لنفاوی محیطی مختلفی تجمع می‌یابد. آنتی‌ژن‌های خونی توسط طحال گرفته می‌شوند، در صورتی که آنتی‌ژن‌های فضاهای بافتی وارد سیستم لنفاوی شده و توسط عقده‌های لنفی موضعی گرفته می‌شوند. گرهٔ لنفی فیلتری بسیار توانا می‌باشد که قادر است بیش از ۹۰٪ آنتی‌ژن‌های موجود در لنف آوران را به دام اندازد. با گذشتن آنتی‌ژن از بین ساختار سلولی گرهٔ لنفی ، به یکی از سه نوع سلول عرضه کننده آنتی‌ژن (سلول‌های دندریتیک در پاراکورتکس، ماکروفاژها در سرتاسر گره و سلول‌های دندریتیک فولیکولی در فولکیول‌های مرکز زایا) برخورد خواهد کرد. تماس آنتی‌ژنی که

www.bbooks.ir

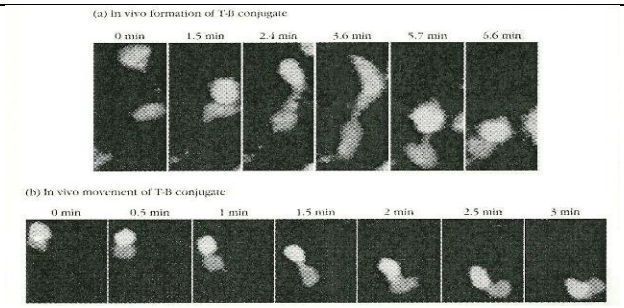
منجر به پاسخ ایمنی هومورال می‌شود، با واسطه یک سری از حوادث پیچیده انجام می‌گیرد که در ریز محیط‌های مختلف گرهٔ لنفی صورت می‌گیرد (شکل ۱۸-۱۱).



شکل ۱۸-۱۱: دیاگرام شماتیکی از یک غده لنفی محیطی که دارای جایگاه های آناتومیک می باشند و در آنها مراحل مختلف فعال شدن، تکثیر و تمایز سلول B رخ می دهد.

با پیشرفت‌های میکروسکوپی، امکان مشاهده سلول‌های کبد در داخل بافت‌های زنده فراهم شده است. اخیراً محققان از این روش برای بررسی واکنش بین سلول‌های B و T در درون گره‌های لنفی استفاده کرده‌اند. آنها سلول‌های B و T نشاندار با فلوئورسنت را از موش‌های ایمن شده با HEL جدا نموده و به موش‌های غیر ایمن تزریق کردند. سپس این موش‌ها را با HEL ایمن کردند و پاسخ‌های سلول‌های B وT و واکنش آنها با یکدیگر را بررسی کردند. مشاهدات نشان می‌دهد که ۳۰ ساعت پس از ایمونیزاسیون، سلول‌های B و T ویژه آنتی‌ژن به یکدیگر نزدیک می‌شوند (شکل ۱۹-۱۱). این کونژوگه به سرعت تشکیل شده و به مدت ۱۰ دقیقه تا ۱ ساعت باقی می‌ماند. در مقابل مدت زمان کونژوگه میان سلول‌های B و T نشاندار در حیوانات غیر ایمن بسیار کوتاهتر بود. مشاهده شد که سلول‌های B و T ویژه آنتی‌ژن در گره لنفی از جایگاه خود به سمت یکدیگر مهاجرت کرده و در مرز میان این دو ناحیه برای تشکیل فرم کونژوگه B-T با یکدیگر واکنش می‌دهند.

www.bbooks.ir



شکل ۱۹-۱۱: دینامیک های *in vitro* از برهمکنش سلول B مجاور شده با آنتی ژن و سلول T_H. (a) میکروسکوپ دو فوتونی برای مشاهده فعالیت سلول های T_H و B در یک غده لنفی به کار رفته است. (b) مشاهده کونژوگه های B-T زنده در یک غده لنفی نشان می دهد که متحرک می باشند.

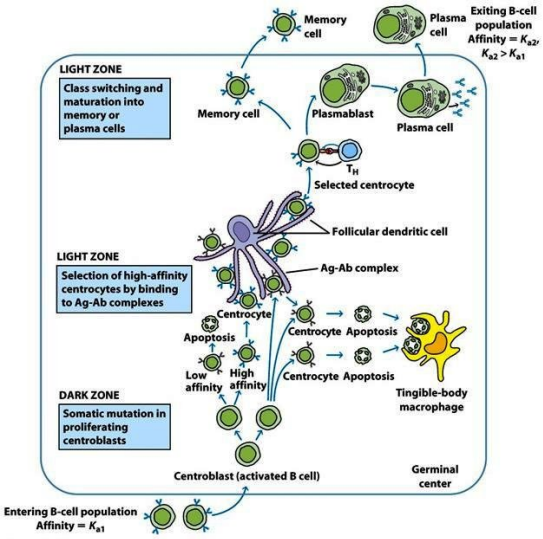
این کونژوگه به سرعت تشکیل شده و به مدت ۱۰ دقیقه تا ۱ ساعت باقی می‌ماند. در مقابل مدت زمان کونژوگه میان سلول‌های B و T نشاندار در حیوانات غیر ایمن بسیار کوتاهتر بود. مشاهده شد که سلول‌های B و T ویژه آنتی‌ژن در گره لنفی از جایگاه خود به سمت یکدیگر مهاجرت کرده و در مرز میان این دو ناحیه برای تشکیل فرم کونژوگه B-T با یکدیگر واکنش می‌دهند.

زمانی که سلول B با واسطه آنتی‌ژن فعال می‌شود، کانون کوچکی از سلول‌های B تکثیر شونده در مرز ناحیه غنی از سلول‌های T شکل می‌گیرد. این سلول‌های B به پلاسماسل‌های ترشح کننده ایزوتایپ‌های IgM و IgG تمایز می‌یابند. اغلب آنتی‌بادی‌های تولید شده طی پاسخ اولیه، از پلاسماسل‌های این کانون منشاء می‌گیرند. یک سری وقایع مشابه نیز در طحال صورت می‌گیرد و در آن جا فعال شدن ابتدایی سلول‌های B در PALS رخ می‌دهد (شکل ۱۷-۲).

www.bbooks.ir

- مراکز زایا و تمایز سلول B وابسته به آنتی‌ژن

مراکز زایا طی ۷ تا ۱۰ روز پس از مواجهه با آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس ایجاد می‌شوند. سه واقعه مهم تمایزی (بلوغ میل پیوندی، تعویض رده وتشکیل سلول‌های B خاطره‌ای و پلاسماسل‌ها) برای سلول B در مراکز زایا رخ می‌دهد. بلوغ میل پیوندی و تشکیل سلول‌های خاطره‌ای نیازمند مراکز زایا می‌باشد. با این وجود در برخی موارد، تعویض رده و تشکیل مقادیر قابل توجهی پلاسماسل می‌تواند در خارج از مراکز زایا نیز صورت بگیرد. در طول مراحل اولیه تشکیل مراکز زایا، سلول‌های B فعال، متحمل تکثیر شدید می‌شوند. این سلول‌های B تکثیر شونده با نام سنتروبلاست در بخشی از مراکز زایا تحت عنوان ناحیه تاریک[1] ظاهر می‌شوند(شکل ۲۰-۱۱).



شکل ۲۰-۱۱: وقایع سلولی در مراکز زایا.

1- dark zone

www.bbooks.ir

سنتروبلاست‌ها را می‌توان با اندازه بزرگ، سیتوپلاسم گسترده،کروماتین منتشر و عدم حضور یا حضور بسیار اندک Ig غشایی مشخص نمود. سنتروبالست‌ها در نهایت سنتروسیت‌ها را تشکیل می‌دهند که کوچک‌تر می‌باشند. سنتروسیت‌ها، سلول‌های B می‌باشند که دارای Ig غشایی بوده و تقسیم نمی‌شوند. سنتروسیت‌ها از ناحیه تاریک به بخش حاوی سلول‌های دندریتیک فولیکولی با نام ناحیه روشن[1] مهاجرت کرده و در آنجا با آنتی‌ژن‌ها واکنش می‌دهند.

- بلوغ میل پیوندی، در نتیجه جهش مکرر و گزینش ایجاد می‌شود

میانگین میل پیوندی آنتی‌بادی‌های تولید شده در پاسخ هومورال، به طور چشمگیری طی‌فرآیند بلوغ میل پیوندی افزایش می‌یابد. این اثر برای اولین بار توسط ایسن[2] و سیسکیند[3]، زمانی مشاهده شد که آنها خرگوش‌ها را با مجموعه هاپتن – حامل -DNP) BCG) ایمن کردند. آنها میل پیوندی آنتی‌بادی‌های ضد DNP سرم را در پاسخ به آنتی‌ژن، طی ۲، ۵ و ۸ هفته پس از ایمونیزاسیون سنجش نمودند. میانگین میل پیوندی آنتی‌بادی‌های ضد DNP از هفته ۲ تا ۸ مورد ۱۴۰ برابر افزایش یافته بود. بررسی‌های بعدی نشان داد که اساس بلوغ میل پیوندی، هایپرموتاسیون‌سوماتیک می‌باشد.

- هایپرموتاسیون سوماتیک

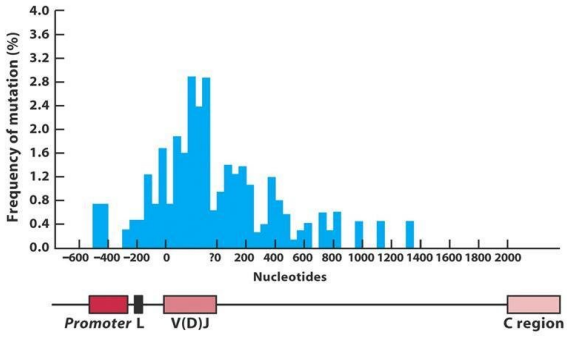
بررسی‌ژن‌های آنتی‌بادی طی پاسخ ایمنی نشان می‌دهد که در پاسخ به عفونت،جهش وسیعی در ژن‌های ایمونوگلبولین سلول‌های B مراکز زایا اتفاق می‌افتد. کلزو[4] و همکارانش نشان دادند که جایگاه هایپرموتاسیون سوماتیک در مراکز زایا می‌باشد. آن‌ها شیوع جهش

1- light zone
2- H.N. Eisen
3- G.W.Siskind
4- G.Kelsoe

www.bbooks.ir

در سلول‌های B مراکز زایا را با فعال شدن شدید سلولB در خارج از مراکز زایا، مقایسه کردند. بدین منظور، آنها یک لایه نازک بافت طحال موش‌های ایمن شده با هاپتن ۴-هیدروکسی ۳- نیتروفنیل‌استات (NP) کونژوگه با پروتئین حامل گاماگلبولین جوجه تهیه کردند. این سیستم بسیار مناسب بود، زیرا پاسخ اولیه به این هاپتن به طور غالب از بازآرایی یک ژن زنجیره سنگین خاص و زنجیره سبک (در موش، بیش از ۹۵٪ آنتی‌بادی‌ها دارای زنجیره‌های سبک k می‌باشند) می‌باشد؛ و در نتیجه، آنتی‌بادی برعلیه ایدیوتایپ این آنتی‌بادی را می‌توان به سادگی برای پایش سلول‌های B پاسخ دهنده به کار برد. با استفاده از آنتی‌بادی‌های ضد ایدیوتایپ و روش‌های رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی، این محققان سلول‌های B حامل آنتی‌بادی ضد NP را در مراکز زایا و کانون‌های فعال خارج از مراکز زایا را شناسایی کردند. سپس ژن‌های Ig هر سلول B کلون گردید و توالی آن‌ها مشخص‌شد. جهش‌های بسیار کمی در ژن‌های Ig سلول‌های B فعال شده در کانون‌های خارج از مراکز زایا صورت گرفته بود ولی جهش‌های بسیاری درسلول‌های B موجود در مراکز زایا به چشم می‌خورد.

به طور قابل توجهی، وقوع جهش‌های نقطه‌ای در زمان حذف و اضافه شدن ژن‌های Ig طی بازآرایی صورت می‌گرفت(شکل ۲۱-۱۱).



شکل ۲۱-۱۱: فراوانی هایپرموتاسیون سوماتیک با فاصله گرفتن از بازآرایی ژن V(D)J کاهش می یابد.

www.bbooks.ir

اگر چه فرآیند هایپرموتاسیون در سرتاسر ناحیه V اتفاق می‌افتد ولی در نهایت، گزینش توسط آنتی‌ژن منجر به بروز ژن‌های ایمونوگلبولینی می‌شود که اکثرجهش‌های آن در نواحی CDR متمرکز شده‌اند.

بدلیل این که جهش سوماتیک، فرآیندی تصادفی می‌باشد، شمار اندکی از سلول‌های دارای پذیرندهای با میل پیوندی بالا و بسیاری از سلول‌های دارای پذیرنده با میل پیوندی پایین برای یک آنتی‌ژن خاص تولید خواهند شد. بنابراین، بایستی جمعیت سلول‌های با میل پیوندی بالا گزینش شوند و مراکززایا جایگاه این گزینش می‌باشند.

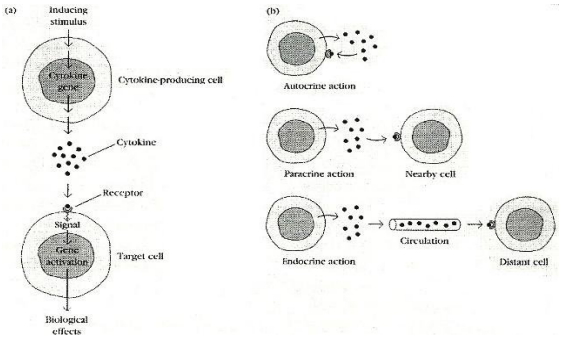
- گزینش

هایپرموتاسیون سوماتیک ژن‌های نواحی متغیر زنجیره سبک و سنگین، زمانی رخ می‌دهد که سنتروبلاست‌ها در نواحی تاریک مرکز زایا قرار دارند. گزینش در ناحیه روشن و در میان سنتروسیت‌های غیر تکثیری صورت می‌پذیرد. مهمترین عاملی که برگزینش تأثیر می‌گذارد، توانایی مولکول‌هایIg غشایی سنتروسیت در شناسایی و اتصال به آنتی‌ژن‌های عرضه شده روی FDCها می‌باشد. بدلیل این که سطح FDCها غنی از پذیرنده‌های Fc و پذیرنده‌های کمپلمان می‌باشد، مجموعه آنتی‌ژن - آنتی‌بادی یا قطعات آنتی‌ژنی پوشیده شده با C3b، می‌توانند به FDCها متصل شوند. یک سنتروسیت حاولی Ig غشایی به آنتی‌ژن سطح FDC متصل شده و پیام ضروری برای بقا را دریافت می‌کند و عدم دریافت چنین پیامی سبب مرگ می‌شود. با این حال، سنتروسیت‌ها بایستی برای مقادیر اندک آنتی‌ژن موجود بر روی FDCها با یکدیگر رقابت کنند. به دلیل محدودیت مقدار آنتی‌ژن، سنتروسیت‌های حاوی پذیرنده با میل پیوندی بالا، نسبت به سنتروسیت‌های با میل پیوندی پایین، شانس بیشتری برای اتصال موفق با آنتی‌ژن دارند (شکل ۲۰-۱۱).

www.bbooks.ir

- تعویض رده

دو فعالیت مهم آنتی‌بادی شامل اتصال اختصاصی به آنتی‌ژن و شرکت در اعمال اجرایی مختلف زیستی می‌باشند. تعویض رده، به هردومن V_H این امکان را می‌دهدکه با هر ایزوتایپی همراه شود. این امر سبب می‌شود که ویژگی آنتی‌بادی ثابت باقی بماند. حال آنکه فعالیت اجرایی مولکول، طی این روند تغییر می‌یابد. برخی از سایتوکاین‌ها در تعویض رده Ig دخالت دارند (شکل ۲۲-۱۱).



شکل ۲۲-۱۱: برهمکنش سایتوکاین های مختلف بر روی سلول های B، پیام هایی را ایجاد می کنند که جهت تکثیر و تعویض رده در طول تمایز سلول های B به پلاسماسل ها نیز می باشند.

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، پاسخ هومورال به آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس توسط تعویض رده گسترده (به هر ایزوتایپی غیر از IgM) مشخص می‌شود، در حالی که پاسخ آنتی‌بادی به آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس به طور غالب از کلاس IgM می‌باشد. در مورد آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس، واکنش غشایی میان CD40 سطح سلول B و CD40L سطح سلول T_Hجهت تحریک تعویض رده ضروری می‌باشد.

www.bbooks.ir

- سلول‌های B خاطره‌ای و پلاسماسل‌ها در مراکز زایا تولید می‌شوند

پس از گزینش سلول‌های B دارای mIg با میل پیوندی بالا، برخی سلول‌های B به پلاسماسل و برخی از آنها به سلول B خاطره‌ای تمایز می‌یابند (شکل ۲۰-۱۰). هر چند که مراکز زایا از مکان‌های اصلی تولید پلاسماسل‌ها می‌باشند ولی این سلول‌ها در مکان‌های دیگری نیز تولید می‌شوند. معمولاً پلاسماسل‌ها فاقد mIg قابل شناسایی بوده و لی در عوض، مقادیر بالایی از آنتی‌بادی ترشحی تولید می‌کنند (با سرعت ۱۰۰۰ مولکول Ig در هر سلول در هر ثانیه). برای تمایز سلول‌های B بالغ به پلاسماسل‌ها، تغییر در نحوه پردازش RNA ضروری می‌باشد.

همان‌طور که اشاره شد، سلول‌های B که طی گزینش در ناحیه روشن مراکززایا زنده ماندند، به سلول‌های خاطره‌ای تمایز می‌یابند. برخی خصوصیات سلول‌های B خاطره‌ای و بکر (دست نخورده) در جدول ۶-۱۱ خلاصه شده است.

TABLE 11-6 Comparison of naive and memory B cells

Property	Naive B cell	Memory B cell
Membrane markers		
Immunoglobulin	IgM, IgD	IgM, IgD(?), IgG, IgA, IgE
Complement receptor	Low	High
Anatomic location	Spleen	Bone marrow, lymph node, spleen
Life span	Short-lived	May be long-lived
Recirculation	Yes	Yes
Receptor affinity	Lower average affinity	Higher average affinity due to affinity maturation*
Adhesion molecules	Low ICAM-1	High ICAM-1

* Affinity maturation results from somatic mutation during proliferation of centroblasts and subsequent antigen selection of centrocytes bearing high-affinity mIg.

به غیر از Igهای متصل به غشا، چندین مولکول غشایی دیگر در تمایز سلول‌های B خاطره‌ای و سلول‌های B دست‌نخورده دخالت دارند. سلول‌های B دست‌نخورده تنها IgM و IgD را عرضه می‌کنند؛ در حالی‌که بدنبال تعویض‌زده، سلول‌های B خاطره‌ای، ایزوتایپ‌های دیگری مثل IgA و IgE را نیز بیان می‌کنند.

www.bbooks.ir

- تنظیم پاسخ‌های ایمنی اجرایی

در صورت مواجهه با آنتی‌ژن، سیستم ایمنی می‌تواند پاسخ ایمنی ایجاد کند یا وارد حالتی از بی‌پاسخی به نام تحمل گردد. ایجاد ایمنی یا تحمل، که هر دو با واسطه شناسایی اختصاصی آنتی‌ژن توسط سلول‌های B و T واکنشگر با آنتی‌ژن انجام می‌گیرد، بایستی به دقت تنظیم شود، زیرا یک پاسخ نامناسب می‌تواند خطرناک بوده و پیامدهای تهدید کننده‌ای داشته باشد.

- آنتی‌بادی‌های مختلف با یکدیگر رقابت می‌کنند

سابقه ایمنی یک حیوان، روی کمیت و کیفیت پاسخ ایمنی تأثیر می‌گذارد. پاسخ یک حیوان دست‌نخورده در صورت مواجهه با آنتی‌ژن بسیار متفاوت از حیوانی است که پیش‌تر در معرض آنتی‌ژن قرار گرفته است. مواجهه قبلی با یک آنتی‌ژن ممکن است سبب تحمل حیوان نسبت به آنتی‌ژن یا تشکیل سلول‌های خاطره‌ای گردد.

دربرخی موارد، حضور یک آنتی‌ژن رقابتی می‌تواند پاسخ ایمنی به یک آنتی‌ژن دیگر را تنظیم کند. این رقابت آنتی‌ژنی را می‌توان با تزریق یک آنتی‌ژن رقابتی (یک یا دو روز قبل از ایمونیزاسیون با آنتی‌ژن مورد نظر) به موش نشان داد. برای مثال، پاسخ به گلبول‌های قرمز اسب (HRBCs) به وسیله ایمونیزاسیون قبلی با گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBCs) و برعکس، به شدت کاهش می‌یابد (جدول ۷-۱۱).

TABLE 11-7 Antigenic competition between SRBCs and HRBCs

IMMUNIZING ANTIGEN		HEMOLYTIC PLAQUE ASSAY (DAY 8)*	
Ag1 (day 0)	Ag2 (day 3)	Test Ag	PPC/10^6 spleen cells
None	HRBC	HRBC	205
SRBC	HRBC	HRBC	13
None	SRBC	SRBC	626
HRBC	SRBC	SRBC	78

www.bbooks.ir

اگر چه رقابت آنتی‌ژنی یک پدیده شناخته شده می‌باشد، اما اساس سلولی و مولکولی آن ناشناخته است.

- حضور آنتی‌بادی، پاسخ به آنتی‌ژن را مهار می‌کند

مشابه بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی، آنتی‌بادی نیز فیدبک مهاری روی تولید خود دارد. به دلیل مهار با واسطه آنتی‌بادی، برخی واکسن‌ها، مانند سرخک و اوریون به نوزادان زیر یک سال تزریق نمی‌شوند. سطح IgG اکتسابی از مادر تا ۶ ماه پس از تولد بالا باقی می‌ماند. اگر یک نوزاد با واکسن سرخک و اوریون ایمن شود. پاسخ هومورال پایین بوده و سلول‌های خاطره‌ای کافی برای ایجاد ایمنی طولانی مدت تولید نمی‌شوند.

مهار با واسطه آنتی‌بادی را می‌توان به دو طریق توضیح داد؛ اولین توضیح این است که آنتی‌بادی در گردش با سلول‌های B ویژه آنتی‌ژن در اتصال به آنتی‌ژن رقابت می‌کند و این امر مانع از گسترش کلنی سلول‌های B می‌گردد. دومین توضیح این است که اتصال مجموعه‌های آنتی‌ژن- آنتی‌بادی به پذیرنده‌های Fc سلول‌های B، انتقال پیام با واسطه مجموعه BCR را کاهش می‌دهد.

همان‌طور که پاسخ آنتی‌بادی پیش می‌رود، فیدبک آنتی‌بادی سبب مهار پاسخ می‌شود. زمانی که مولکول‌های IgG ترشحی بیشتری در مجموعه‌های آنتی‌ژن- آنتی‌بادی درگیر می‌شوند، بخش Ig این مجموعه‌ها به FcγR سطح سلول‌های B متصل می‌شوند. این اتصال متقاطع، FcγR را به مجاور مجموعه‌های BCR فعال آورده و به فسفاتازهای متصل به دم سیتوپلاسمی FcR این امکان را می‌دهد تا فسفات جایگاه‌های ضروری برای فعال نگه‌داشتن سلول B را جدا نماید. در نتیجه، فعالیت سلولی B به طور چشمگیری با افزایش IgGهای متصل به آنتی‌ژن، دچار تنظیم کاهشی می‌شود. شواهدی مبنی بر چنین رقابت‌هایی بین تزریق غیر فعال آنتی‌بادی و سلول‌های B ویژه آنتی‌ژن، از بررسی‌هایی به دست آمده که در آن میزان سرکوب رقابتی با تزریق آنتی‌بادی ضد DNP با میل پیوندی بالا، ۱۰ برابر بیشتر

www.bbooks.ir

از آنتی‌بادی ضد DNP با میل پیوندی پایین می‌باشد. به علاوه، رقابت بر سر آنتی‌ژن، سبب ایجاد پاسخ B به سمت آنتی‌بادی با میل پیوندی بالاتر می‌شود. تنها سلول‌های ویژه آنتی‌ژن که دارای میل پیوندی بالا باشند، می‌توانند به طور موفق با آنتی‌بادی غیر فعال تزریقی بر سر آنتی‌ژن موجود رقابت کنند.

- خلاصه

- سلول‌های B در مغز استخوان بوجود آمده و در بافت‌های محیطی در مواجهه با آنتی‌ژن، فعال شده و تمایز می‌یابند. سلول‌های B فعال شده می‌توانند پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی یا سلول‌های B خاطره‌ای را تولید کنند.
- بازآرایی متوالی ژن‌های Ig در طی تکوین سلول B منجر به تبدیل سلولPro-B به سلول B نابالغ عرضه کننده mIgM می‌شود. با پیشرفت این فرآیند، سلول‌های B بالغ دست نخورده تولید می‌شوند که تک‌ویژگی بوده و هردو نوع mIgM و mIgD را عرضه می‌کنند.
- وقتی یک BCR خود واکنشگر در مغز استخوان عرضه می‌شود، سلول‌های عرضه کننده طی گزینش منفی و توسط آپوپتوز حذف می‌شوند.
- دربافت‌های محیطی، فعال‌شدن و تمایز با واسطه آنتی‌ژن سلول‌های B بالغ منجر به تولید آنتی‌بادی می‌شود. برای اغلب آنتی‌ژن‌ها، این پاسخ نیازمند سلول‌های T_H می‌باشد که به این پاسخ، وابسته به تیموس (TD) می‌گویند. پاسخ به برخی آنتی‌ژن‌ها، مانند محصولات دیواره سلولی باکتری‌ها (LPS) و مولکول‌های پلی‌مریک با اپی‌توپ‌های تکراری، نیاز به سلول‌های T_H ندارند و آنتی‌ژن‌های مستقل از تمیوس (TI)نامیده می‌شوند.

www.bbooks.ir

- فعال شدن سلول B در نتیجه فرآیند انتقال پیامی می‌باشد که در اثر درگیری سلولB به راه می‌افتد و در نهایت منجر به تغییرات بسیار در سلول، از جمله تغییر در بیان برخی ژن‌ها می‌شود.
- فعال شدن سلول B و T از بسیاری جهات مانند تقسیم وظایف زیر واحدهای پذیرنده، فعال‌شدن توسط پروتئین تیروزین کینازهای همراه غشاء، تجمع مجموعه‌های بزرگ انتقال پیام و فراخوانی چندین مسیر انتقال پیام مشابه می‌باشند.
- کمک‌پذیرنده سلول B می‌تواند شدت پیام‌های فعال‌سازی ناشی از اتصال متقاطع mIg را افزایش دهد. این امر، به خصوص در طی پاسخ اولیه به آنتی‌ژن‌های با غلظت پایین، با اهمیت می‌باشند.
- مولکول غشایی CD22، می‌تواند به عنوان تنظیم کننده منفی فعال شدن سلولB عمل نماید. پروتئین تیروزین فسفاتاز متصل شده به ITIMهای دم سیتوپلاسمی CD22 با برداشت فسفات‌ها، موجب غیر فعال‌شدن مجموعه انتقال پیام مرتبط با BCR می‌شود.
- فعال‌سازی با واسطه آنتی‌ژن‌های TD، نیازمند حمایت با واسطه تماس ناشی از میانکنش بین CD40 سطح سلول B و CD40L سطح سلول‌های TH فعال می‌باشد. واکنش CD40L/CD40 برای بقای سلول B، تشکیل مراکززایا، ایجاد جمعیت سلول‌های خاطره‌ای و هایپرموتاسیون سوماتیک ضروری می‌باشد.
- خصوصیات پاسخ‌های آنتی‌بادی اولیه و ثانویه با یکدیگر تفاوت دارند. پاسخ اولیه یک فاز تأخیری طولانی دارد و IgM ، اولین رده آنتی‌بادی تولید شده می‌باشد که به آهستگی به سایر کلاس‌ها تعویض می‌یابد. پاسخ ثانویه، فاز تأخیری کوتاهتری داشته و از دوام بیشتری برخوردار است. IgG و سایر ایزوتایپ‌ها، محصول اصلی تولید شده در پاسخ ثانویه می‌باشند و میانگین میل پیوندی آنتی‌بادی‌های تولیدی بالاتر می‌باشد.
- مراکز زایا، جایگاه هایپرموتاسیون سوماتیک ژن‌های بازآرایی شده Ig می‌باشند که طی یک هفته پس از مواجهه با آنتی‌ژن‌های TD تشکیل می‌شوند. مراکز زایا جایگاه بلوغ

www.bbooks.ir

میل پیوندی، تشکیل سلول‌های Bخاطره‌ای، تعویض رده و تشکیل پلاسماسل‌ها می‌باشند.

- پاسخ ایمنی هومورال ممکن است توسط فیدبک آنتی‌بادی مهار شود. در این روند، اتصال مجموعهٔآنتی‌ژن-آنتی‌بادی به پذیرنده‌های Fcγ روی سلول‌های B موجب مهار انتقال پیام BCR می‌گردد.

- سئوالات درسی

۱- کدام یک از گزینه‌های زیر درست و کدام یک نادرست است. در صورتی که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست می‌باشد،دلیل خود را بیان کنید.

الف) بازآرایی V_H-D_H-J_H زنجیره سنگین در مرحله Pre-B آغاز می‌شود.

ب) سلول‌های B نابالغ، IgM و IgD غشایی را عرضه می‌کنند .

پ) آنزیم TdT در مرحله Pre-B فعال می‌باشد.

ت) زنجیره سبک جانشین توسط سلول‌های Pre-B بیان می‌شود.

ث) سلول‌های B خود واکنشگر می‌توانند با عرضه زنجیره سبک متفاوت، از گزینش منفی نجات یابند.

ج) برای تکوین سلول‌های B نابالغ، سلول‌های Pre-B بایستی مستقیماً با سلول‌های استرومایی مغز استخوان واکنش دهند.

چ) بیشتر سلول‌های Bکه هر روز تولید می‌شوند،هرگز به عنوان سلول‌های بالغ معز استخوان را ترک نمی‌کنند.

۲- آنتی‌بادی نشاندار با فلورسئین علیه زنجیره سنگین μ و آنتی‌بادی نشاندار با رودامین علیه زنجیره سنگین γ در اختیار دارید. الگوی رنگ‌آمیزی هر یک از مراحل بلوغ سلول B که در زیر آمده است را توضیح دهید. فرض کنید که رنگ‌های سیتوپلاسمی و رنگ‌های غشایی را می‌توانید تشخیص دهید:

www.bbooks.ir

الف) سلولB اجدادای (سلول Pre-B)

ب) سلول B پیش‌ساز (سلول Pro-B)

پ) سلول B نابالغ

ت) سلولB بالغ

ث) پلاسماسل پیش‌از هر گونه تعویض رده

۳- ساختار معمول و عملکرد احتمالی مجموعه کمک پذیرنده سلول B را توضیح دهید.

۴- در آزمایش گودنو که آلرژی کلونی سلول‌های B را نشان می‌داد، دو نوع از موش‌های اصلاح ژنتیک شده با هم مقایسه شدند. موش‌های ترانس‌ژنیک منفرد که تنها ژن آنتی‌بادی ضد HEL را حمل می‌کردند و موش‌های ترانس‌ژنیک مضاعف که ژن anti HEL و HEL متصل به پروموتر متالوتیونین فعال شونده توسط فلز روی را حمل می‌کردند.

الف) در ترانس ژن‌های منفرد و مضاعف، ۶۰ تا ۹۰٪ سلول‌های B ، آنتی‌بادی غشایی ضد HEL را عرضه می‌کردندآن را توضیح دهید.

ب) چطور می‌توانید توضیح دهید که آنتی بادی غشایی این سلول‌ها، ویژه HEL می‌باشند و چگونه می‌توانید ایزوتایپ‌های آن را تعیین کنید؟

پ) چرا پروموتر متالوتیونین در ساختار ترانس ژن HEL به کار گرفته شد؟

ت) آزمایش طراحی کنید که در آن، سلول‌های B (ونه سلول‌های T_H) به دست آمده از ترانس ژنیک‌های مضاعف، آنرژیک باشند.

۵- توالی پیام‌های مورد نیاز برای فعال شدن و تکثیر سلول‌های B تحریک شده توسط

الف) آنتی‌ژن‌های پروتئینی محلول

ب) لیپوپلی ساکارید باکتریایی را توضیح دهید.

۶- جاهای خالی (الف تا ح) را با یکی از واژه‌های مناسب پر کنید. هر واژه ممکن است بیش از یک بار یا اصلاً استفاده نشود.

www.bbooks.ir

ناحیه باریک سنتروبلاست‌ها	
سلول‌هایB خاطره‌ای	سلول‌های دندریتیک فولیکولی
ناحیه روشن سنتروسیت‌ها	سلول‌های TH
پلاسمابلاست‌ها	کورتکس
پاراکورتکس	مدولا

الف) اغلب سنتروسیت‌ها به واسطه آپوپتوز در ---------- می‌میرند.

ب) فعال شدن ابتدایی سلول‌های B دست نخورده که توسط آنتی‌ژن‌های TD تحریک می‌شود، در ناحیه ---------- گره‌های لنفی انجام می‌گیرد.

ب)---------- سلول‌های B با تقسیم سریع می‌باشند که در ---------- مراکز زایا قرار گرفته‌اند.

ت) ----------mIg با میل پیوندی بالا را عرضه می‌کند که با آنتی‌ژن به دام افتاده توسط ------- در ناحیه روشن واکنش می‌دهد.

ث) تعویض رده در ---------- رخ می‌دهدو نیازمند تماس میان سلول‌های B و ---------- می‌باشد.

ج) در گره های لنفی، پلاسماسل‌ها عمدتاً در ---------- فولیکول‌های ثانویه یافت می‌شوند.

ح) هایپرموتاسیون سوماتیک، که در ---------- تکثیری رخ می‌دهد، برای بلوغ میل پیوندی اساسی می‌باشد.

۷- فعال شدن و تمایز سلول‌های B در پاسخ به آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس به کمک سلول های TH نیاز داشته ولی پاسخ سلول‌های B به آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس به آن احتیاجی ندارد.

الف) تفاوت ساختاری آنتی‌ژن‌های TI-2, TI-1, TD و خصوصیات پاسخ‌های تحریکی توسط آنها را توضیح دهید.

www.bbooks.ir

ب) اتصال کدام رده از این آنتی‌ژن‌ها به mIg یک پیام مناسب برای فعال‌شدن سلول‌های B را فراهم می‌کند؟

۸- پیام‌های فعال سازی سلول B بایستی به داخل سلول منتقل شوند تا بتواند روی مراحل تکوین تأثیر بگذارند. حال آنکه دنباله‌های سیتوپلاسمی همه ایزوتایپ‌های mIg سلول‌های B برای انتقال پیام بسیار کوتاه می‌باشند.

الف) چطور سلول‌های B دست نخورده پیام‌های تحریک شده توسط اتصال متقاطع mIg را انتقال می‌دهند؟

ب) نتایج عمومی انتقال پیام در سلول‌های B طی فعال شدن و تمایز با واسطه آنتی‌ژن را توضیح دهید.

۹- کدام یک از گزینه‌های زیر درست و کدام نادرست است. در صورتی که تصور می‌کنید که گزینه‌ای نادرست است، دلیل خود را بیان کنید.

الف) سایتوکاین‌ها می‌توانند تعیین کنند که کدام یک از بازوهای سیستم ایمنی فعال شود.

ب) ایمونیزاسیون باکونژوگه حامل – هاپتن منجر به تولید آنتی‌بادی ضد اپی‌توپ‌های هاپتن و حامل می‌شود.

پ) تمام آنتی‌بادی‌های ترشحی یک پلاسماسل، ایدیوتایپ و ایزوتایپ مشابه دارند.

ت) اگر موش‌های ایمن شده با HRBCs یک روز بعد با SRBCs ایمن شوند، پاسخ آنتی‌بادی ضد SRBCs بسیاربیشتر از موش‌های کنترل که تنها با SRBCs ایمن شده‌اند، می‌شود.

ث) CD21 تنها یک پذیرنده کمپلمان نیست، بلکه یکی از بخش‌های ضروری مجموعه BCR نیز می باشد.

ج) انتقال پیام از طریق مجموعه BCR منجر به انتقال AP-1 به سیتوزول می‌شود.

www.bbooks.ir

چ) دوز یادآور واکسن (بوستر) ضروری می‌باشد، زیرا تکرار مواجهه با آنتی‌ژن، پاسخ ایمنی را قوی‌تر می‌سازد.

ح) IgA علیه آنتی‌ژن‌های TI ساخته می‌شود.

خ) سلول‌های B در تیموس به سلول‌های اجرایی تبدیل می‌شوند.

د) پس از ترشح مقادیر بالای آنتی‌بادی توسط پلاسماسل و کاهش میزان آنتی‌ژن‌های آزاد، سلول به دلیل عدم تحریک BCR دیگر آنتی‌بادی ترشح نمی‌کند.

ذ) آنتی‌ژن‌های TI-1 موادی مانند LPS می‌باشند که می‌توانند سلول‌های B را به طور غیر اختصاصی و به میزان بالا فعال کنند.

۱۰-جای خالی را با کلمات یا جملات مناسب پرکنید.

الف) سندرم افزایش IgM وابسته به جنس، در نتیجه نقص در CD40L سطح سلول T ایجاد می‌شود، که با مهار ---------- روی سلول‌های B تأثیر می‌گذارد.

ب) سایتوکاین ---------- سبب القای تعویض رده IgE در سلول‌های B می‌شود.

پ) زنجیره سبک جانشین Pre-BCR از ---------- و ---------- تشکیل شده است.

ت) ---------- بالغ مقادیر فراوانی IgG محصول تولید می‌کنند

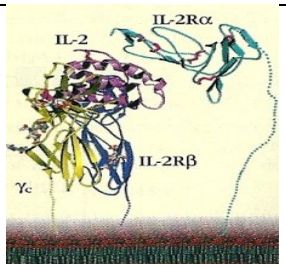
www.bbooks.ir

فصل دوازدهم

سایتوکاین‌ها

- خصوصیات سایتوکاین‌ها
- پذیرنده‌های سایتوکاینی
- آنتاگونیست‌های سایتوکاین‌ها
- ترشح سایتوکاین‌ها توسط زیر رده‌های T_H1 و T_H2
- بیماری‌های مرتبط با سایتوکاین‌ها
- درمان بر پایه سایتوکاین‌ها
- سایتوکاین‌ها درخونسازی

www.bbooks.ir



در شکل‌گیری یک پاسخ ایمنی مؤثر، سلول‌های لنفاوی، سلول‌های التهابی و سلول‌های خون‌ساز دخالت دارند. میانکنش پیچیده بین این سلول‌ها به گروهی از پروتئین‌ها وابسته بوده که **سایتوکاین**[1] نام داشته و نقش ارتباط میان سلول‌ها را بازی می‌کنند. سایتوکاین‌ها، پروتئین‌ها یا گلیکوپروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم بوده که توسط گلبول‌های سفید یا دیگر سلول‌ها در پاسخ به تعدادی از محرک‌ها ترشح می‌شوند. این پروتئین‌ها درگسترش سلول‌های مؤثر ایمنی شرکت داشته و تعدادی از آنها نیز اعمال خود را به صورت مستقیم انجام می‌دهند. اصطلاح سایتوکاین به آن دسته از سایتوکاین‌هایی که توسط لنفوسیت‌ها و منوسیت/ماکروفاژها اتلاق می‌شود که در گذشته با نام‌های **لنفوکاین**[2] و **منوکاین**[3] خوانده می‌شدند. اگر چه این دو اصطلاح هنوز مورد استفاده می‌باشند، ولی گمراه کننده هستند، زیرا ترشح برخی از لنفوکاین‌ها و منوکاین‌ها به لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها محدود نبوده و توسط طیف وسیعی از سلول‌ها ترشح می‌شوند. به همین دلیل، بهترین اصطلاح پیشنهادی همان سایتوکاین می‌باشد.

برخی از سایتوکاین‌ها را تحت عنوان **اینترلوکین**[4] می‌شناسند و همان‌طور که از نام آن پیداست، توسط برخی گلبول‌های سفید ترشح شده و روی گلبول‌های سفید دیگر اثر می‌گذارد. تاکنون، اینترلوکین‌ها را از IL-1 تا IL-29 طبقه‌بندی کرده‌اند. دلایلی وجود دارند

1- cytokines
2- lymphokine
3- monokine
4- interleukin

www.bbooks.ir

که اینترلوکین‌های بیشتری کشف خواهند شد و در نتیجه، گروه اینترلوکین‌ها توسعه بیشتری خواهد یافت. تعدادی از سایتوکاین‌ها بوسیله نام‌های متداول، مانند **اینترفرون یا فاکتور نکروز دهنده تومور** خوانده می‌شوند. اگر چه اخیراً برخی از اینترفرون‌ها، مثل اعضای خانواده IFN-λ شناسایی شده‌اند که آنها را با نام IL می‌خوانند. **کموکاین‌ها**[1]، زیرگروه‌دیگری از سایتوکاین‌ها بوده که مولکول‌هایی با وزن مولکولی کم و مسئول کموتاکسی می‌باشند. این مولکول‌ها که نقش مهمی را در پاسخ‌های التهابی ایفا می‌کنند، در فصل ۳ معرفی شدند و به طور کامل‌تری در فصل ۱۳ توصیف می‌گردند.

این فصل به فعالیت زیستی سایتوکاین‌ها، ساختمان، پذیرنده‌ها و انتقال پیام توسط پذیرنده‌های آنها و همچنین، نقش ناهنجاری‌های سایتوکاینی، پاتوژنز برخی بیماری‌ها و استفاده‌های درمانی از سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌های آنها خواهد پرداخت. نقش مهم سایتوکاین‌ها در پاسخ‌های التهابی در فصل ۱۳ شرح داده می‌شود.

- خصوصیات سایتوکاین‌ها

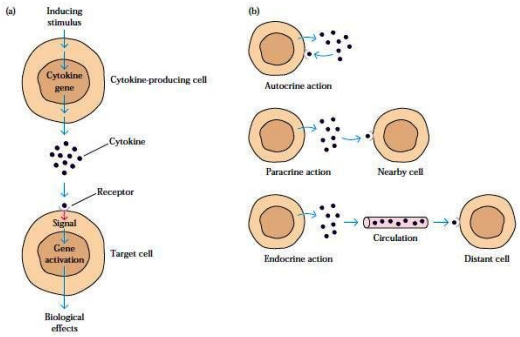
سایتوکاین‌ها بر سطح سلول‌های هدف، به پذیرنده‌های اختصاصی خود متصل شده و مسیرهای انتقال پیام را آغاز کرده که در نهایت بیان ژن‌ها را در این سلول‌ها تغییر می‌دهند (شکل ۱a-۱۲). حساسیت سلول هدف به یک سایتوکاین خاص، به حضور پذیرنده اختصاصی آن سایتوکاین بر سطح آن سلول بستگی دارد. در ادامه می‌بینیم که پذیرنده‌های سایتوکاین‌ها ممکن است از زنجیره‌های مختلفی ساخته شده باشند و این که پذیرنده یک سایتوکاین مشخص، ممکن است از ترکیب زنجیره‌های مختلف، بر سطح سلول ایجاد شود. این ترکیبات از نظر میل ترکیبی در اتصال به سایتوکاین و همچنین توانایی شروع انتقال پیام پس از اتصال به سایتوکاین، با یکدیگر تفاوت دارند. در مجموع، سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌های

1- chemokines

www.bbooks.ir

کامل آنها میل ترکیبی بسیار زیادی به یکدیگر داشته و موجب القای پیام‌های داخل سلولی می‌گردند. ثابت تفکیک سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌های مناسب آنها در حدود $۱۰^{-۱۰}$ تا $۱۰^{-۱۲}$ بوده و بدلیل میل ترکیبی بسیار زیاد، اثرات بیولوژیک سایتوکاین‌ها در غلظت‌های پیکومولار قابل مشاهده می‌باشند.

یک سایتوکاین خاص ممکن است با پذیرنده غشایی همان سلول ترشح کننده سایتوکاین اتصال برقرار کرده و به اصطلاح به صورت **اتوکراین**[1] عمل کند. این سایتوکاین در صورت اتصال به پذیرنده موجود بر سطح سلول هدف که در نزدیکی سلول تولید کننده قرار دارد. عمل خود را به صورت **پاراکراین**[2] انجام می‌دهد و در موارد کمی، ممکن است سایتوکاین‌ها به سلول‌های هدف در نقاط دورتری اتصال یافته و به صورت **اندوکراین**[3] عمل کنند (شکل ۱b-۱۲).



شکل ۱-۱۲: (a) مروری بر بر روند القا و عملکرد سایتوکاین ها. (b) اکثر سایتوکاین ها عملکرد اتوکراین و پاراکراین را نشان داده و اندکی از آنها عملکرد اندوکراین را نشان می دهند.

سایتوکاین‌ها با تحریک یا ممانعت از فعالیت، تکثیر و/یا تمایز سلول‌های مختلف و با تنظیم ترشح آنتی‌بادی‌ها یا سایر سایتوکاین‌ها بر شدت و زمان پاسخ‌های ایمنی تأثیر

1- autocrine
2- paracrine
3- endocrine

www.bbooks.ir

می‌گذارند. همان‌طور که بعداً توضیح داده خواهد شد، اتصال یک سایتوکاین به سلول هدف پاسخگو، عمدتاً موجب افزایش پذیرنده‌های سایتوکاین و ترشح سایتوکاین‌های دیگر گردیده که آن نیز به نوبه خود سلول‌های هدف دیگری را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین، حتی سایتوکاین‌های ترشح شده بوسیله یک جمعیت کوچک از لنفوسیت‌های فعال شده توسط آنتی‌ژن، می‌تواند موجب فعالیت سلول‌های متعددی گردد که در پاسخ ایمنی درگیر می‌باشند. برای مثال، سایتوکاین‌های تولید شده توسط سلول‌های T_H فعال شده، می‌توانند فعالیت سلول‌های B، سلول‌های Tc، سلول‌های کشنده طبیعی، ماکروفاژها، گرانولوسیت‌ها و سلول‌های بنیادی خونساز را تحت تأثیر قرار داده و در نتیجه، شبکه‌ای از سلول‌های میانکنش دهنده فعال می‌گردند.

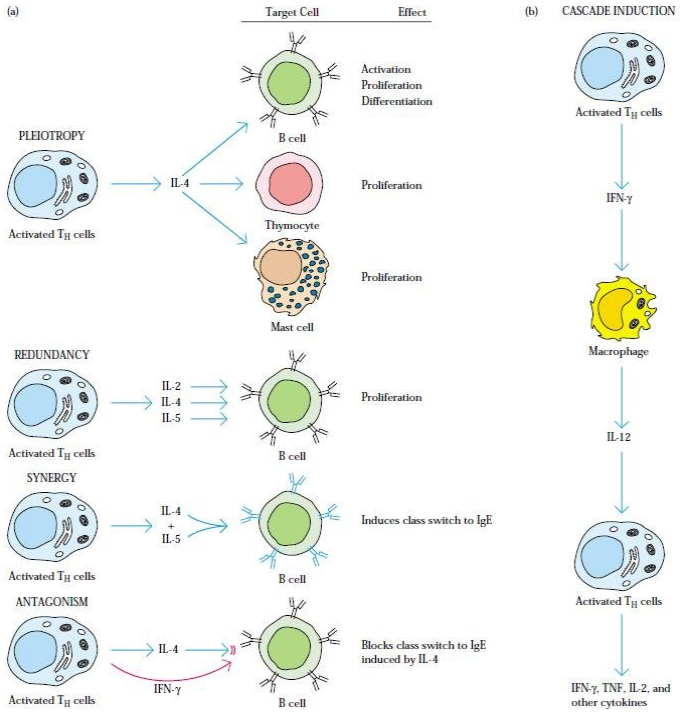
سایتوکاین‌ها دارای جنبه‌هایی از چند اثری، هم‌اثری، سینرژی،آنتاگونیسم و القای آبشاری هستند که به آنها اجازه می‌دهد تا فعالیت سلولی را در یک مسیر هماهنگ، تنظیم کند (شکل ۲-۱۲).

یک سایتوکاین مشخص، تأثیرات بیولوژیکی متفاوتی بر روی سلول‌های هدف مختلف داشته که به این خاصیت، **چند اثری**[1] می‌گویند. دو یا تعداد بیشتری از سایتوکاین‌ها می‌توانند اعمل یکسانی را القا کنند که این خاصیت، **هم‌اثری**[2] خوانده می‌شود. این ویژگی (هم‌اثری) توصیف یک فعالیت خاص را برای یک سایتوکاین مشخص مشکل می‌کند. **سینرژیسم** سایتوکاین، زمانی دیده می‌شود که اثر ترکیب دو سایتوکاین روی فعالیت سلولی بیشتر از مجموع تأثیرات هر کدام از آنها به تنهایی بر سلول مورد نظر باشد. در بعضی موارد، سایتوکاین‌ها از خود **آنتاگونیسم** نشان می‌دهند و این حالت هنگامی رخ می‌دهد که یک سایتوکاین، تأثیرات سایتوکاین دیگر را مهار می‌کند. **القای آبشاری** زمانی رخ می‌دهد که اثر یک سایتوکاین روی یک سلول هدف، تولید یک یا چند سایتوکاین دیگر را درآن

1- pleiotropy
2- redundancy

www.bbooks.ir

سلول القا کند که آنها نیز به نوبه خـود سـلول‌هـای هـدف دیگـری را جهـت تولیـد سـایر سایتوکاین‌ها تحریک کنند.



شکل ۲-۱۲: سایتوکاین ها دارای خصوصیات (a) چند اثری، هم اثری، سینرژیسم، آنتاگونیسم و (b) القای آبشاری می باشند.

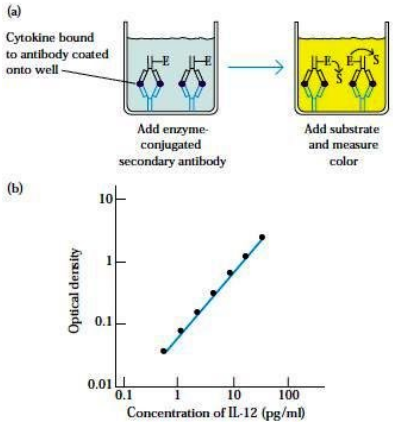
از آنجایی که سایتوکاین‌ها در بسیاری از ویژگی‌ها با هورمون‌ها و فاکتورهای رشـد تشـابه دارند، تمایز میان این سه کلاس از میانجی‌ها، اغلب دشوار می‌باشد اگرچه، تمامی این مـواد، عوامل محلول ترشحی هستند که اثرات بیولوژیک خود را در غلظت‌های پیکومولار و در اثـر اتصال به پذیرنده‌هایشان بر روی سلول‌های هدف اعمال می‌کنند، ولی به صـورت کلـی و از نظر ویژگی‌های عمومی با یکدیگر تفاوت دارند. برای مثـال، فاکتورهـای رشـد دائمـاً تولیـد می‌شوند در حالی که سایتوکاین‌ها و هورمون‌ها در پاسخ به محرک‌های مجزا و بـه صـورت

www.bbooks.ir

کوتاه مدت دربازه زمانی چند ساعت تا چند روز ترشح می‌شوند. برخلاف هورمـون‌هـا کـه معمولاً به صورت اندوکراین و در فواصل دور عمل می‌کنند، بیشـتر سـایتوکاین‌هـا در یـک مسافت کوتاه و اغلب به صورت اتوکراین یا پاراکراین عمل می‌کننـد. عـلاوه بـر آن اغلـب هورمون‌ها توسط غدد تخصصی یافته‌ای تولید می‌شوند و تمایل به انجام یک عمـل منحصـر به فرد بر روی یک یا چند نوع از سلول‌های هدف را دارند. در طرف مقابل، سـایتوکاین‌هـا اغلب توسط انواع مختلفی از سلول‌ها تولید شده و بـر روی سـلول‌هـای مختلفـی نیـز تـأثیر می‌گذارند.

فعالیت سایتوکاین‌ها، اولین‌بار در اواسط دهه ۱۹۶۰ شناسایی شد، زمانی که مشخص شـد مایع روی کشت لنفوسیت‌ها در شرایط in vitro، حاوی فاکتورهایی که قادر به تنظیم تکثیر، تمایز و بلوغ سلول‌های ایمنی میزبان‌هایی که از نظر ژنتیکی با هم تفاوت دارنـد، مـی‌باشـند. پس از آن، کشف شد که تولید این فاکتورها توسـط لنفوسـیت هـای کشـت شـده، در اثـر آنتی‌ژن‌ها یا میتوژن‌های غیر اختصاصی القا می‌گردد. بدلیل غلظت پـایین سـایتوکاین‌هـا در مایعات روی کشت و عدم وجود روش‌های مناسب انـدازه‌گیـری وجداسـازی بیوشـیمیایی، خالص‌سازی آنها با مشکل مواجه بود. با توسعه تکنیک های کلون کردن ژن در دهه ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ که منجر به تولید سایتوکاین‌های خالص بوسیله بیان پروتئین از ژن‌های کلون شده گردید، پیشرفت بزرگی حاصـل شـد. کشـف رده‌هـای سـلولی کـه رشـدشـان بـه حضـور سایتوکاین‌های خاصی وابسته بود، اولین سیستم‌های ساده ارزیابی را دراختیار محققـان قـرار داد و تولید آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی علیه هر کدام از سایتوکاین‌ها موجب شکل‌گیری روش‌های اندازه‌گیری سریع برای هر کدام از آنها گردید (شکل ۳-۱۲).

www.bbooks.ir



شکل ۳-۱۲: آزمون الیزای یک سایتوکاین (a) نمونه محتوی سایتوکاین مورد نظر با یک آنتی بادی اختصاصی به دیواره های یک پلیت جذب می گردد. یک آنتی بادی اختصاصی دیگر کونژوگه شده با یک آنزیم مثل HRP با سایتوکاین جذب شده یک ساندویچ تشکیل می دهد و آنزیم را در دیواره پلیت غیرمتحرک می سازد. یک سوبسترای رنگ زا به آن اضافه شده و آنزیم ایجاد رنگ می کند که شدت آن متناسب با مقدار سایتوکاین متصل به آنتی بادی جذب شده می باشد. (b) منحنی استاندارد در این شکل برای IL-12 انسانی می باشد.

علاوه بر روش ELISA که اینجا نشان داده شده است، آنتی‌بادی‌ها اختصاصی ضدسایتوکاین به منظور رنگ‌آمیزی داخل سلولی سلول‌ها توسط روش FACS و تکنیک EILSPOT که ترشح سایتوکاین خاصی را توسط سلول‌های یک جمعیت اندازه‌گیری می‌کند، کاربرد دارند (شکل ۱۱-۶).

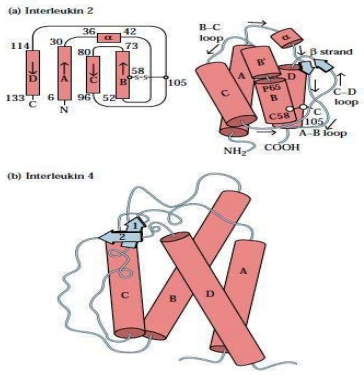
- سایتوکاین‌ها به چهار خانواده تعلق دارند

در سال‌های اخیر، یک انفجار اطلاعات درباره سایتوکاین‌هاو پذیرنده‌های جدید بوجود آمده است. محققان تلاش می‌کنند تا اطلاعات بیشتری را در این باره جمع‌آوری کنند و ویژگی‌های جدید زیادی را در مورد سایتوکاین‌ها و فعالیت‌های چندگانه آنها و میانکنش بین آنها کشف کنند. پیشرفت‌های حاصل شده در زمینه آنالیز ژنومی، زمینه تحقیق را برای

www.bbooks.ir

بررسی ژنوم پروتئین‌هایی که ویژگی‌های متنوعی دارند را ممکن ساخته است. بنابراین ما دریافته‌ایم که برخلاف دو عضوی که قبلاً در خانواده IL-2 حضور داشتند، این خانواده دارای ۷ عضو می‌باشد. ارتباط دقیق این اعضا با عملکرد ایمنی هنوز مشخص نیست و خارج از این بحث می‌باشد. در اینجا هدف، فراهم کردن یک لیست خسته کننده از سایتوکاین‌ها نمی‌باشد. درعوض هدف ما دادن یک سری اصول کلی است که در مورد سایتوکاین‌هایی که به تازگی کشف می‌شوند، به کار می‌رود.

با کلون کردن ژن‌های سایتوکاین‌های مختلف، مقادیر کافی از محصولات خالص‌سازی شده‌ای بدست آمد که برای مطالعه جزئیات ساختمانی و عملکرد آنها به کار می‌رود. این مطالعات، ویژگی‌های مشترکی را نشان می‌دهند. سایتوکاین‌ها معمولاً وزن مولکولی کمتر از ۳۰ کیلو دالتون دارند. مطالعات ساختمانی مشخص می‌کنند که تاکنون سایتوکاین‌ها به یکی از چهار خانواده اصلی: هماتوپویتین‌ها،اینترفرون‌ها، کموکاین‌ها و فاکتورهای نکروز دهنده تومور تعلق داشته‌اند.



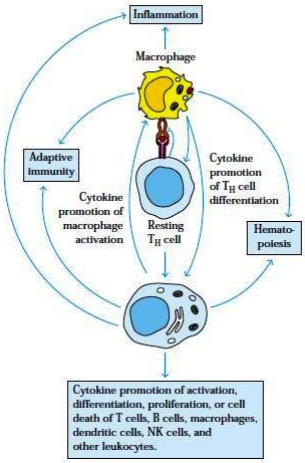
شکل ۴-۱۲: چندین تصویر از ساختارهای مختلف در خانواده هماتوپویتین. (a) سمت چپ شمای توپوگرافیک ساختار اولیه IL-2 که نواحی مارپیچ α و زنجیره های اتصال دهنده این مولکول را نشان می دهد. سمت راست مدل پیشنهادی با ساختار سه بعدی IL-2 را نشان می دهد. (b) مدل روبانی IL-4 حاصل از آنالیز بلورنگاری پرتو x این مولکول، مارپیچ های α و صفحات β را نشان می دهد.

www.bbooks.ir

در شکل ۴-۱۲ ساختمان‌های IL-2 و IL-4 که دو عضو از خانواده هماتوپویتین‌ها می‌باشند به تصویر کشیده شده است. هر چند که توالی اسیدآمینه‌ای اعضای این خانواده به طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت می‌باشند ولی همگی دارای مقادیر زیادی از ساختمان مارپیچ α (A تا D)بوده که در آن، مارپیچ‌های اول و دوم و مارپیچ‌های سوم و چهارم با یکدیگر موازی بوده و توسط حلقه‌هایی به هم متصل می‌گردند.

- سایتوکاین‌ها اعمال بیولوژیکی متعددی دارند

هر چند که طیف وسیعی از سلول‌ها قادر به ترشح سایتوکاین‌ها می‌باشند ولی تولیدکننده‌های اصلی آنها، سلول‌های T_H، سلول‌های دندرتیک و ماکروفاژها هستند. سایتوکاین‌های رها شده از این سلول‌ها، یک شبکه کامل از سلول‌های واکنش‌گر را فعال می‌کنند (شکل ۵-۱۲).



شکل مروری ۵-۱۲: عملکردهای سایتوکاین در ایمنی ذاتی و اکتسابی.

در میان پاسخ‌های فیزیولوژیک متعدد، که به فعالیت سایتوکاین‌ها نیاز دارند می‌توان به پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی، القای پاسخ‌های التهابی، تنظیم خونسازی، کنترل تکثیر و

www.bbooks.ir

تمایز سلولی و بهبود زخم اشاره کرد. اگر چه پاسخ ایمنی به یک آنتی‌ژن خاص، می‌تواند شامل تولید سایتوکاین‌ها باشد، ولی آگاهی از این که سایتوکاین‌ها در مسیری غیراختصاصی فعالیت می‌کنند نیز مهم می‌باشد.

در مجموع تعداد پروتئین‌هایی که فعالیت سایتوکاینی دارند به بیش از ۲۰۰ عدد می‌رسد و تحقیقات در زمینه کشف انواع جدید نیز ادامه دارد.

TABLE 12-1 Functional groups of selected cytokines[1]

Cytokine*	Secreted by**	Targets and effects
SOME CYTOKINES OF INNATE IMMUNITY		
Interleukin 1 (IL-1)	Monocytes, macrophages, endothelial cells, epithelial cells	Vasculature (inflammation); hypothalamus (fever); liver (induction of acute phase proteins)
Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α)	Macrophages	Vasculature (inflammation); liver (induction of acute phase proteins); loss of muscle, body fat (cachexia); induction of death in many cell types; neutrophil activation
Interleukin 12 (IL-12)	Macrophages, dendritic cells	NK cells; influences adaptive immunity (promotes T_H1 subset)
Interleukin 6 (IL-6)	Macrophages, endothelial cells	Liver (induces acute phase proteins); influences adaptive immunity (proliferation and antibody secretion of B cell lineage)
Interferon α (IFN-α) (This is a family of molecules)	Macrophages	Induces an antiviral state in most nucleated cells; increases MHC class I expression; activates NK cells
Interferon β (IFN-β)	Fibroblasts	Induces an antiviral state in most nucleated cells; increases MHC class I expression; activates NK cells
SOME CYTOKINES OF ADAPTIVE IMMUNITY		
Interleukin 2 (IL-2)	T cells	T-cell proliferation; can promote AICD. NK cell activation and proliferation; B-cell proliferation
Interleukin 4 (IL-4)	T_H2 cells; mast cells	Promotes T_H2 differentiation; isotype switch to IgE
Interleukin 5 (IL-5)	T_H2 cells	Eosinophil activation and generation
Interleukin 25 (IL-25)	Unknown	Induces secretion of T_H2 cytokine profile
Transforming growth factor β (TGF-β)	T cells, macrophages, other cell types	Inhibits T-cell proliferation and effector functions; inhibits B-cell proliferation; promotes isotype switch to IgE; inhibits macrophages
Interferon γ (IFN-γ)	T_H1 cells; $CD8^+$ cells; NK cells	Activates macrophages; increases expression MHC class I and class II molecules; increases antigen presentation

[1]Many cytokines play roles in more than one functional category.
*Only the major cell types providing cytokines for the indicated activity are listed; other cell types may also have the capacity to synthesize the given cytokine.
**Also note that activated cells generally secrete greater amounts of cytokine than unactivated cells.

جدول ۱-۱۲ فعالیت برخی از سایتوکاین‌ها را به صورت خلاصه بیان کرده و آنها را به صورت گروههای عملکردی طبقه‌بندی کرده است. باید به خاطر داشت که عملکردهای سایتوکاین‌ها از آنالیز تأثیرات سایتوکاین‌های نوترکیب که در غلظت‌های غیر فیزیولوژیک و شرایط in vitro به کار رفته‌اند، بدست آمده است، و این در حالی است که سایتوکاین‌ها در in vivo به ندرت به صورت تنهایی عمل می‌کنند. در عوض، سلول هدفی که با محیطی مشتمل بر مخلوطی از سایتوکاین‌ها که دارای اثرات آنتاگونیستی و سینرژیسمی هستند،

www.bbooks.ir

مواجه شود، می‌تواند نتایج خیلی متفاوتی داشته باشد. علاوه بر آن، سایتوکاین‌ها در اغلب موارد سنتز سایتوکاین‌های دیگر را القا کرده که منجر به آبشارهای فعالیت می‌گردند.

به نظر می‌رسد که غیر اختصاصی بودن سایتوکاین‌ها با اختصاصی عمل کردن سیستم ایمنی در تضاد باشد. چه چیزی مانع از فعال کردن غیر اختصاصی سلول‌ها طی پاسخ ایمنی توسط سایتوکاین‌ها می‌گردد؟ یک روش، تنظیم دقیق بیان پذیرنده‌های سایتوکاینی بر سطح سلول‌ها می‌باشد. در اغلب موارد، بیان پذیرنده‌های سایتوکاینی بر سطح یک سلول، تنها پس از برخورد آن سلول با آنتی‌ژن صورت می‌گیرد. در روش دیگر، ترشح سایتوکاین تنها هنگامی که سلول ترشح کننده آن مستقیماً با سلول هدف میانکنش داشته باشد، صورت می‌گیرد. در نتیجه، غلظت‌های مؤثر سایتوکاین تنها در مجاورت سلول هدف ایجاد خواهد شد. در مورد سلول T_H که تولید کننده اصلی سایتوکاین می‌باشد، میانکنش سلولی هنگامی رخ می‌دهد که پذیرنده سلول T، مجموعه‌ای از آنتی‌ژن-MHC را بر سطح یک سلول عرضه کننده آنتی‌ژن مثل ماکروفاژ، سلول دندریتیک یا لنفوسیت B شناسایی کند. غلظت سایتوکاین‌های مترشحه در محل اتصال این سلول‌ها به قدری افزایش می‌یابد تا تنها بر روی APC هدف و نه سلول‌های دورتر تأثیرگذار باشد. به علاوه، نیمه عمر سایتوکاین‌ها در جریان خون یا سایر مایعات خارج سلولی که در آن ترشح می‌شوند، معمولاً بسیار کوتاه بوده و در نتیجه تنها در یک دوره زمانی کوتاه مؤثر می‌باشند.

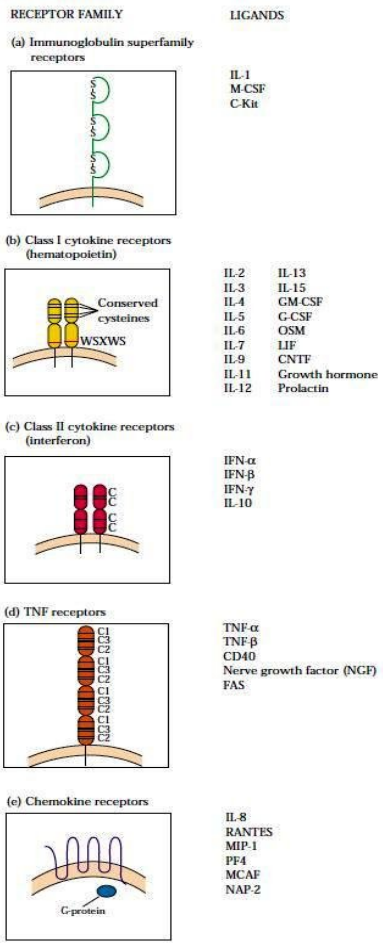
- پذیرنده‌های سایتوکاین

همان‌گونه که اشاره شد، سایتوکاین‌ها نقش زیستی خود را با پیوند به پذیرنده‌های ویژه روی غشای سلول‌های هدف انجام می‌دهند. انواع گوناگونی از سلول‌ها، این پذیرنده‌ها را بیان کرده و به عملکرد سایتوکاین‌ها حساس می‌باشند.

www.bbooks.ir

- پذیرنده‌های سایتوکاین‌ها در پنج خانواده قرار می‌گیرند

پذیرنده سایتوکاین‌ها از نظر ساختاری بسیار گوناگون می‌باشند، اما بیشتر آنها در یکـی از پنج خانواده پروتئین‌های پذینده قرار می‌گیرند(شکل ۶-۱۲):



شکل ۶-۱۲: دیاگرام شماتیکی از خصوصیات ساختاری چهار نوع پروتئین پذیرنده که اکثراً به سایتوکاین ها متصل می شوند. پذیرنده های اکثر اینترلوکین ها به خانواده پذیرنده سایتوکاین های رده I تعلق دارند. C بیانگر سیستئین حفاظت شده می باشد.

www.bbooks.ir

- خانواده بزرگ پذیرنده‌های ایمونوگلبولین
- خانواده پذیرنده‌های سایتوکاینی رده I (خانواده پذیرنده هماتوپویتین)
- خانواده پذیرنده‌های سایتوکاینی رده II (خانواده پذیرنده اینترفرون)
- خانواده پذیرنده‌های TNF
- خانواده پذیرنده‌های کموکاین

خانواده بزرگ پذیرنده‌های ایمونوگلبولین شامل پذیرنده IL-1 می‌باشد؛ دو شکل IL-1 (IL-1α ، IL-1β) شناخته شده که در ۳۰ درصد توالی اسید آمینه‌ای خود با یکدیگر شباهت دارند. دو پذیرنده گوناگون برای IL-1 شناخته شده که نوع یک IL-1R بر روی سلول‌های گوناگونی عرضه می‌شود، در حالی که نوع دو محدود به سلول‌های B می‌باشد. IL-1 دارای نقش کلیدی در التهاب بوده و یک سایتوکاین پیش التهابی به شمار می‌آید. بیشتر پذیرنده‌های سایتوکاینی که در سیستم ایمنی و خونسازی نقش دارند از خانواده پذیرنده‌های سایتوکاینی رده I (خانواده پذیرنده‌های هماتوپویتین)هستند؛ اعضای این خانواده دارای ردیف‌های اسیدآمینه‌ای حفاظت شده در دومن‌های خارج سلولی، شامل چهار واحد سیستئینی حفاظت شده (CCCC) و یک ردیف حفاظت شده تریپتوفان-سرین-x-تریپتوفان-سرین (WSXWS) می‌باشند. IL-2 و نزدیک به ۱۳ اینترلوکین دیگر، چندین عامل محرک کلنی و هورمون‌های رشد به این خانواده تعلق دارند. پذیرنده IL-27 که به تازگی کشف شده است، یک زنجیره مشترک با سایر پذیرنده‌های این خانواده دارد و زنجیره دیگر آن هنوز ناشناخته مانده است. پذیرنده‌های سایتوکاینی رده II (خانواده پذیرنده اینترفرون) دارای ردیف‌های حفاظت شده CCCC بوده اما فاقد توالی WSXWS می‌باشند.

پیش‌تر گفته می‌شد تنها اینترفرون‌های α ، β و γ لیگاندهای این پذیرنده‌ها می‌باشند، اما بررسی‌های جدید نشان می‌دهند که پذیرنده‌های این خانواده شامل ۱۲ زنجیره هستند که با تجمع‌های گوناگون قادر به پیوند با ۲۷ سایتوکاین مختلف می‌باشند؛ این سایتوکاین‌ها شامل موارد زیر می‌باشند: شش عضو از خانواده IL-10 ، هفده عضو از خانواده اینترفرون

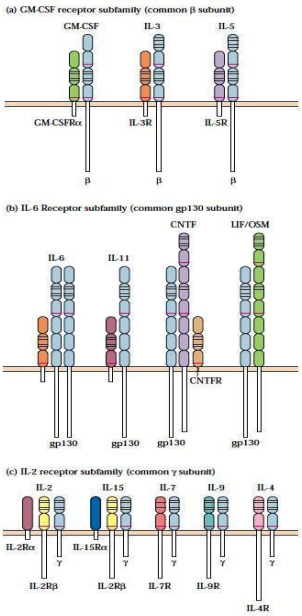
www.bbooks.ir

نوع I، یک عضو از خانواده اینترفرون نـوع II و سـه عضـو از خـانواده IFN-λ (IL-z9,IL- 28b,IL-28b, IL-28a) که با تازگی شناخته شده‌اند.

- زیرخانواده پذیرنده‌های سایتوکاینی رده I، زیر واحدهای انتقال پیام مشترک دارند

چندین زیر خانواده از پذیرنده‌های سایتوکاینی رده I شناخته شده‌اند، به شـکلی کـه تمـام پذیرنده‌های یک زیر خانواده یک زیرواحد انتقال پیام مشترک دارند. شـکل ۷-۱۲ اعضـای سه زیر خانواده (GM-CSF، IL-2 و IL-6) را به ترتیب نشان می‌دهد.

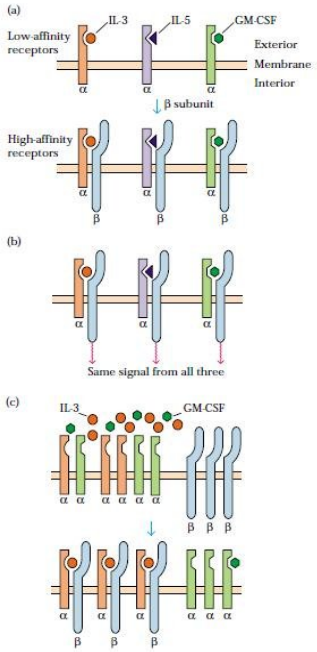
به پذیرنـده‌هـای GM-CSF کـه شـامل پذیرنـده‌هـایی بـرای IL-3، IL-5 و GM-CSF می‌باشد، توجه کنید(شکل ۷a-۱۲):



شکل ۷-۱۲: دیاگرام شماتیکی از سه زیر خانواده پذیرنده های سایتوکاین های رده I. تمام اعضای یک زیرخانواده، زیرواحد انتقال پیام مشترکی دارند.

www.bbooks.ir

هر کدام از این سایتوکاین‌ها با میل پیوندی پایینی به پروتئین اختصاصی پذیرنده سایتوکاین (زیر واحد α پذیرنده‌های دایمر) متصل می‌شوند. هر سه نوع زیر واحد با میل پیوندی پایین می‌توانند به شکل غیرکووالان به زیر واحد انتقال پیام مشترک β متصل شوند؛ در پی دایمر شدن میل پیوندی افزایش یافته و در صورت اتصال به سایتوکاین‌ها قادر به انتقال پیام از درون غشا می‌باشند (شکل ۸a-۱۲).



شکل ۸-۱۲: برهمکنش های بین زیرواحد های اختصاصی سایتوکاین و یک زیرواحد انتقال پیام مشترک در پذیرنده های سایتوکاین. (a) دیاگرام شماتیکی از پذیرنده های با میل پیوندی بالا و پایین IL-3، IL-5 و GM-CSF. (b) اتصال زیرواحدهای اختصاصی سایتوکاین با یک واحد پیام رسانی مشترک موجب تولید پیام های یکسان از پذیرنده های متفاوت می شود. (c) رقابت زنجیره های متصل شونده به لیگاند پذیرنده های مختلف یک نوع زیرواحد می تواندآثار آنتاگونیستی بین سایتوکاین ها را ایجاد کند.

IL-3، IL-5 و GM-CSF عملکرد همپوشانی دارند. IL-3 و GM-CSF روی سلول‌های بنیادی خونساز و سلول‌های پیش‌ساز اثر کرده، سبب فعال‌سازی منوسیت‌ها شده و تمایز

www.bbooks.ir

مکاکاریوسیت‌ها را القا می‌کنند. هر سه سایتوکاین سبب القای تکثیر ائوزینوفیل‌ها، و گرانولاسیون بازوفیل‌ها و آزاد سازی هیستامین می‌شوند.

وضعیت همسانی در زیر خانواده پذیرنده‌های IL-6 شامل پذیرنده‌های IL-6، IL-11 ، عامل مهار کننده لوسمی (LIF)، اونکواستاتین M(OSM) و عامل نوروتروپیک مویی[1](CNTF) دیده می‌شود (شکل ۷b-۱۲).

در این موارد، زیر واحد انتقال پیام مشترکی به نام gp130 به یک یا دو زیر واحد مختلف اتصال می‌یابد. LIF و OSM شکل ساختاری یکسانی دارند و هر دو به یک زیر واحد α مشابه پیوند می‌شوند. IL-6، OSM و LIF سنتزپروتئین‌های فاز حاد توسط کبد و تمایز سلول‌های لوسمی میلوئید به ماکروفاژ را القا می‌کنند، همچنین سبب القای بلوغ مگاکاریوسیت‌ها و تولید پلاکت می‌شوند.

سومین نوع زیر واحد انتقال پیام شناخته شده ، زیر خانواده پذیرنده IL-Z می‌باشد که شامل پذیرنده‌هایی برای IL-2، IL-4، IL-7،IL-9، IL-12 و IL-15(شکل ۷c-۱۲) می‌باشد. پذیرنده‌های IL-2 و IL-15 هترودایمری از یک زنجیره α اختصاصی برای سایتوکاین و دو زنجیره (γ ,β) پیام‌رسان تشکیل شده‌اند.

عملکرد زنجیره γ پذیرنده IL-2 در سایر پذیرنده‌های این زیر خانواده که همگی دایمر هستند، به عنوان زیر واحد پیام‌رسان می‌باشد. به تازگی نشان داده شده است که ناهنجاری مادرزادی نقص ایمنی مختلط شدید وابسته به جنس[2] (XSCID) در پی ناهنجاری ژن زنجیره γ که در جایگاه کروموزوم X قرار دارد بروز می‌کند.

نقص ایمنی مشاهده شده در این ناهنجاری،که سبب کاهش عملکرد سلول‌های T و NK می‌شود، در پی عدم عملکرد تمام سایتوکاین‌های وابسته به پذیرنده‌های زیر خانواده IL-2

1- ciliary neurotrophic factor
2- x-linked severe combined immunodeficency

www.bbooks.ir

می‌باشد. یک گونه دیگر SCID که در آن ناهنجاری در سلول T دیده می‌شود و عملکرد سلول‌های NK طبیعی است، در پی ناهنجاری ژنتیکی پذیرنده IL-7 ایجاد می‌شود.

- کامل‌ترین مطالعه بر روی IL-2R صورت گرفته است

بدلیل نقش مرکزی IL-2 و پذیرنده‌اش در تکثیر سلول‌های T، مطالعه زیادی بر روی پذیرنده IL-2 صورت گرفته است. همان‌طور که در قسمت قبل عنوان شد، پذیرنده سه واحدی کامل از سه زیر واحد مجزای زنجیره‌های α ، β و γ تشکیل شده است. زنجیره‌های β و γ به خانواده پذیرنده‌های سایتوکاینی کلاس I تعلق داشته و دارای موتیف‌های CCCC و WSXWS می‌باشند، در حالی که زنجیره α ساختار نسبتاً متفاوتی بوده و به این خانواده تعلق ندارد (شکل۷c-۱۲).

پذیرنده IL-2 در سه شکل و با میل ترکیبی متفاوت برای IL-2Rα وجود دارد.که منومر بوده و میل ترکیبی کمی دارد، IL-2R$\beta\gamma$ که دایمر بوده و میل ترکیبی متوسطی دارد و IL-2R$\alpha\beta\gamma$ که ترایمر بوده و میل ترکیبی بالایی دارد. بررسی کریستالوگرافی اشعه x ساختمان شکل ترایمر پذیرنده IL-2 همراه با خود مولکول IL-2 در جایگاه اتصال آن، مشخص ساخته که IL-2 در داخل پاکتی که توسط زنجیره‌های β و γ ایجاد می‌شود، جای می‌گیرد. در صورت حضور زنجیره α، اتصالات اضافی مهمی نیز برقرار می‌شوند که موجب افزایش میل ترکیبی پذیرنده سه واحدی به IL-2 می‌گردد.

به دلیل این که زنجیره IL-2Rα تنها توسط سلول‌های T فعال شده بیان می‌گردد، بعضی اوقات با نام آنتی‌ژن TAC (فعالیت سلول T) یا CD25 خوانده می‌شود؛ در گذشته از CD25 به عنوان مارکر سطحی بلوغ سلول‌های T یاد می‌شد (شکل ۲-۱۰). جهت شناسایی IL-2Rα بر روی سطح سلول‌ها از یک آنتی‌بادی منوکلونال (ضد TAC یا ضد CD25) استفاده می‌شود که به پروتئین ۵۵ کیلودالتونی زنجیرهα متصل می‌گردد. حضور مقادیر بالای CD25 در سلول‌های T بالغ نشان دهنده فعالیت این سلول‌ها بوده و همان‌طور که در

www.bbooks.ir

فصل ۲ بیان شد و در فصل ۱۶ نیز جزئیات آن بیان خواهد شد، ممکن است نشان دهنده حضور سلول‌های Treg (سلول‌های $CD4^+T$ با مقادیر بالای CD25) باشد. بیان سه زنجیره پذیرنده IL-2 در سلول‌های مختلف متفاوت می‌باشد: زنجیره γ بصورت دائمی در اکثر سلول‌های لنفاوی بارز می‌شود، در حالی که بیان زنجیره‌های α و β محدودتر بوده و پس از فعال کردن لنفوسیت‌های در حال استراحت توسط آنتی‌ژن صورت می‌پذیرد. این محدودیت بیان، تضمین کننده این است که تنها سلول‌های $CD4^+T$ و $CD8^+$ که توسط آنتی‌ژن فعال شده‌اند، پذیرنده IL-2 با میل ترکیبی بالا را بیان کرده و در پاسخ به مقادیر فیزیولوژیک IL-2، تکثیر می‌شوند. سلول‌های T فعال شده تقریباً ۵×۱۰^{۳} پذیرنده با میل ترکیبی بالا را بیان می‌کنند و میزان پذیرنده‌های با میل ترکیبی کم آنها نیز ۱۰ برابر افزایش می‌یابد. سلول‌های NK بصورت دائم زیر واحدهای β و γ را بیان می‌کنند که عامل اتصال آنها به IL-2 با میل ترکیبی متوسط و فعال شدن آنها می‌باشد.

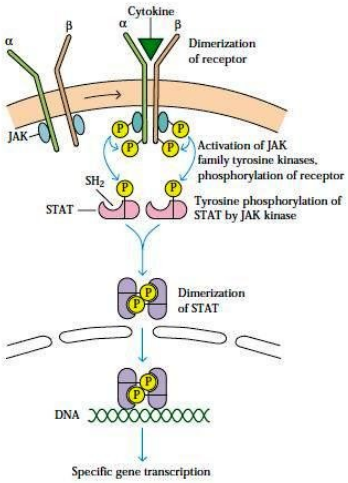
- پذیرنده‌های سایتوکاینی آغاز کننده انتقال پیام می‌باشند

با وجودی که برخی از پذیرنده‌های سایتوکاینی مهم، خارج از خانواده‌های I و II قرار دارند، ولی اکثریت آنها در این دو خانواده جای دارند. همانطور که اشاره شد، پذیرنده‌های سایتوکاینی کلاس I و II فاقد موتیف‌های انتقال سیگنال می‌باشند (برای مثال، دومن‌های تیروزین کنیاز). مشاهدات ابتدایی نشان داده‌اند که یکی از اولین رویدادهای پس از میانکنش سایتوکاین با یکی از پذیرنده‌هایش، یک‌سری از وقایع فسفریلاسیون تیروزین پروتئین می‌باشد. این نتایج در ابتدا گیج‌کننده بودند ولی با شکل‌گیری مدلی که وقایع مولکولی را پس از اتصال IFN-γ به پذیرنده‌اش که به خانواده کلاس II تعلق دارد، نشان می‌داد، شرح داده شد.

کشف IFN-γ در ابتدا به دلیل توانایی آن در القای سلول‌ها جهت مهار تکثیر طیف وسیعی از ویروس‌ها صورت گرفت. خاصیت ضد ویروسی IFN-γ با IFN-α و IFN-β

www.bbooks.ir

مشترک می‌باشد. هر چند که برخلاف IFNهای دیگر، IFN-γ نقش تنظیم کنندگی ایمنی مثل تنظیم فاگوسیت‌های تک‌هسته‌ای، سویچ سلول B به کلاس‌های مشخصی از IgG و حمایت یا مهار شکل‌گیری زیررده‌های سلول T_H را نیز داراست. کشف مسیر اصلی انتقال پیام در اثر اتصال IFN-γ به پذیرنده‌اش، منجر به شناخت مراحل مختلف القای پیام در اغلب پذیرنده‌های کلاس I و II گردیده (شکل ۱۰-۱۲).



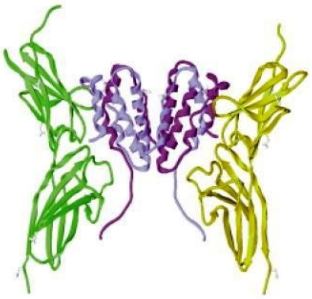
شکل ۱۰-۱۲: عمل اصلی انتقال پیام بواسطه اکثر پذیرنده های سایتوکاین I و II. اتصال یک سایتوکاین موجب دایمریزاسیون زیرواحد های پذیرنده می شود که به فعال شدن زیرواحد پذیرنده متصل به JAK و درنتیجه فسفریلاسیون بنیان های تیروزین مختلف و ایجاد جایگاه های اتصال برای STATها می انجامد. STAT های فعال شده به هسته منتقل شده و در آنجا نسخه برداری از ژن های خاصی را القا می کنند.

- پذیرنده سایتوکاین از زیرواحدهای مجزایی تشکیل شده‌اند که یک زنجیره عموماً جهت اتصال و انتقال پیام ضروری بوده و دیگری جهت انتقال پیام ضروری بوده و اغلب نقش ضعیفی در اتصال بازی می‌کند.
- تیروزین کینازهای غیرفعال متفاوتی با زیرواحدهای مختلف پذیرنده ارتباط دارند. زنجیره α با خانواده جدیدی از پروتئین تیروزین کینازها بنام خانواده کیناز جانوس

www.bbooks.ir

(JAK) مرتبط است. ارتباط JAK با زیرواحد پذیرنده به صورت خودبخودی بوده و نیازی به اتصال سایتوکاین نمی‌باشد. هر چند که در نبود سایتوکاین، JAKها نیز فاقد فعالیت پروتئین تیروزین کینازی می‌باشند.

- اتصال سایتوکاین ارتباط زیرواحدهای مجزای پذیرنده و فعالیت JAKهای مرتبط با پذیرنده را القا می‌کند. توانایی IFN-γ در مرتبط ساختن زنجیره‌های اتصال به لیگاند پذیرنده‌اش، مستقیماً توسط مطالعات کریستالوگرافی اشعه x (شکل ۱۱-۱۲) نشان داده شده است.



شکل ۱۱-۱۲: مجموعه بین IFN-γ و زنجیره های متصل شونده به لیگاند پذیرنده آن.

- JAK های فعال شده، جایگاههایی برای اتصال عوامل نسخه‌برداری STAT ایجاد می‌کنند که این عمل با فسفریلاسیون اسیدآمینه‌های تیروزین خاصی در زیرواحدهای پذیرنده سایتوکاین صورت می‌گیرد. اعضای خانواده‌ای از عوامل نسخه‌برداری که STAT (انتقال‌دهنده پیام و فعال‌کننده‌های نسخه‌برداری[1]) خوانده می‌شوند، به این تیروزین‌های فسفریله شده اتصال یافته و در مسیرهای انتقال پیام طیف وسیعی از سایتوکاین‌ها (جدول ۲-۱۲) نقش مهمی را عهده‌دارند. اتصال STATها به

1- signal transducers and activatrs of transcription

www.bbooks.ir

زیرواحدهای پذیرنده از طریق اتصال دومن SH2 موجود در STAT به واحدهای تیروزین فسفریله شده در زیر واحد پذیرنده در اثر JAK صورت می‌گیرد.

TABLE 12-2 STAT and JAK interaction with selected cytokine receptors during signal transduction

Cytokine receptor	JAK	STAT
IFN-γ	JAK1 and JAK2	Stat1
IFN-α/β	JAK1 and Tyk-2	Stat2
IL-2	JAK1 and JAK3	Stat5
IL-3	JAK2	Stat5
IL-4	JAK1 and JAK3	Stat6
IL-6	JAK1 (and sometimes others)	Stat3
IL-10	JAK1 and Tyk-2*	Stat3
IL-12	JAK2 and Tyk-2*	Stat4

*Despite its name, Tyk-2 is also a Janus kinase.

SOURCE: Adapted from E. A. Bach, M. Aguet, and R. D. Schreiber, 1997, *Annu. Rev. Immun.* 15:563.

- پس از فسفریلاسیون بواسطه JAK، عوامل نسخه‌برداری STAT از غشای سلول به هسته منتقل شده و نسخه‌برداری از ژن‌های خاص را آغاز می‌کنند. در حالی که STATها به زیرواحدهای پذیرنده متصل می‌باشند توسط JAK تحت فسفریلاسیون در یک جایگاه تیروزین کلیدی قرار گرفته که با جدا شدن STAT از زیر واحد و دایمر شدن آن همراه می‌باشد. دایمرهای STAT به داخل هسته منتقل شده و موجب القای بیان ژن‌هایی می‌گردند که در نواحی پروموتر خود دارای توالی‌های تنظیم کننده مناسبی می‌باشند.

علاوه بر IFN-γ ، تعدادی از سایر لیگاندهای کلاس I و II نیز موجب دایمر شدن پذیرنده‌هایشان می‌گردند. یکی از عناصر مهم اختصاصیت سایتوکاین‌ها از ویژگی انطباق سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌هایشان مشتق می‌گردد. جنبه دیگر اختصاصیت سایتوکاین‌ها این است که هر سایتوکاین خاص (یا گروهی از سایتوکاین‌های هم اثر) موجب القای نسخه‌برداری در یک سری از ژن‌های خاص در یک نوع سلول مشخص می‌گردد؛ سپس محصولات این ژن‌ها موجب اثرات متنوع آن سایتوکاین می‌گردند.

www.bbooks.ir

IL-1 از مسیر JAK-STAT برای انتقال پیام استفاده نمی‌کند و در عوض از کیناز مرتبط باپذیرنده IL-1 یا IRAK برای انتقال پیام، بهره می‌برد. پروتئین‌های IRAK توسط TLRها نیز برای انتقال پیام، مورد استفاده قرار می‌گیرند(شکل ۱۴-۳).

- آنتاگونیست‌های سایتوکاین‌ها

تعدادی از پروتئین ها وجود دارند که فعالیت بیولوژیکی سایتوکاین‌ها را مهار می‌کنند. این پروتئین‌ها به یکی از دو روش زیر عمل خود را انجام می‌دهند گروهی از آنها به پذیرنده‌های سایتوکاین متصل شده ولی قادر به فعال‌سازی سلول نمی‌باشند و گروه دیگر، یا مستقیماً به سایتوکاین متصل شده و از فعالیت آن ممانعت به عمل می‌آورند. مشخص‌ترین این مهار کننده‌ها، آنتاگونیست پذیرنده IL-1 (IL-1Ra) بوده که به پذیرنده متصل شده و موجب مهار اتصال IL-1α و IL-1β به پذیرنده می‌گردد. برخی تصور می‌کنند که تولید IL-1Ra در تنظیم شدت پاسخ‌های التهابی نقش دارد. امروزه این مولکول، کلون شده و مصرف آن به عنوان درمان قدرتمند بیماری‌های التهابی مزمن، تحت بررسی می‌باشد.

مهار کننده‌های سایتوکاین‌ها در جریان خون و مایع خارج سلولی یافت می‌شوند. این آنتاگونسیت‌های محلول در اثر شکست آنزیمی بخش خارج سلولی پذیرنده‌های سایتوکاین، حاصل می‌شوند. از جمله پذیرنده‌های سایتوکاینی محلول می‌توان به پذیرنده‌های IL-2، 4، 6و 7، IFN-γ و α، TNF-β و LIF اشاره کرد. در میان آنها خصوصیات پذیرنده محلول IL-2 (SIL-2R) که در فعالیت مزمن سلول‌های T، آزاد می‌شود بیشتر شناسایی شده است. یک قطعه ۱۹۲ اسید آمینه‌ای از انتهای آمینی زیر واحد α در اثر شکست پروتئولیتیک آزاد شده و یک پذیرنده محلول IL-2 با وزن ۴۵ کیلودالتونی را ایجاد می‌کند. این پذیرنده می‌تواند به IL-2 اتصال یافته و مانع از میانکنش آن با پذیرنده غشایی IL-2 گردد.

حضور SIL-2R یک شاخص بالینی از فعالیت مزمن سلول‌های T بوده و در تعدادی از بیماری‌ها مثل خود ایمنی، رد پیوند و AIDS مشاهده می‌گردد.

www.bbooks.ir

در برخی از ویروس‌ها استراتژی‌هایی جهت مقابله با فعالیت سایتوکاین‌ها شکل گرفته‌اند. تکامل چنین استراتژی‌های ضد سایتوکاینی در پاتوژن‌های میکربی، شاهد بیولوژیک مبنی بر اهمیت سایتوکاین‌ها در سازماندهی و پیشبرد پاسخ‌های ایمنی مؤثر ضد میکربی می‌باشد. از استراتژی‌های متنوع ضد سایتوکاینی که توسط ویروس‌ها به کاربرده می‌شود می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- هموکوک‌های سایتوکاین
- پروتئین‌های محلول متصل شونده به سایتوکاین
- همولوگ‌های پذیرنده‌های سایتوکاینی
- مداخله در انتقال پیام داخل سلولی
- مداخله در ترشح سایتوکاین
- القای مهارکننده‌های سایتوکاین در سلول میزبان

ویروس اپشتین‌بار (EBV) مولکولی شبه IL-10 (VIL-10 یا IL-10 ویروسی) تولید می‌کند که به پذیرنده IL-10 اتصال یافته و همانند آن، پاسخ‌های سلولی T_H1 را مهار می‌کند (قسمت بعدی). این پاسخ‌ها علیه بسیاری از انگل‌های داخل سلولی مثل ویروس‌ها مؤثر می‌باشند. مولکول‌هایی که از سایتوکاین‌ها تقلید می‌کنند و توسط ویروس‌ها تولید می‌گردند، به ویروس اجازه می‌دهند تا پاسخ ایمنی را به نحوی اداره کند تا به بقای پاتوژن کمک کند. EBV همچنین یک القا کننده IL-IRa را تولید می‌کند که آنتاگونیست IL-1 میزبان می‌باشد. پاکسی‌ویروس‌ها یک پروتئین محلول متصل شونده به TNF و یک پروتئین محلول متصل شونده به IL-1 تولید می‌کنند. از آنجایی که IL-1 و TNF دارای فعالیت‌های متعددی در پاسخ التهابی می‌باشند، این پروتئین‌های محلول متصل شونده به سایتوکاین موجب کاهش یا تضعیف آثار التهابی سایتوکاین‌ها می‌گردند. جدول ۳-۱۲ تعدادی از محصولات ویروسی که سایتوکاین‌ها و فعالیت آنها را مهار می‌کند را نشان می‌دهد.

www.bbooks.ir

TABLE 12-3 Viral mimics of cytokine and cytokine receptors

Virus	Product
Leporipoxvirus (a myxoma virus)	Soluble IFN-γ receptor
Several poxviruses	Soluble IFN-γ receptor
Vaccinia, smallpox virus	Soluble IL-1 β receptor
Epstein-Barr	IL-10 homolog
Human herpesvirus-8	IL-6 homolog; also homologs of the chemokines MIP-I and MIP-II
Cytomegalovirus	Three different chemokine receptor homologs, one of which binds three different soluble chemokines (RANTES, MCP-1, and MIP-1α)

- ترشح سایتوکاین توسط زیر رده‌های T_H1 و T_H2

پاسخ ایمنی به یک پاتوژن خاص می‌بایست موجب القای یک‌سری از عملکردهایی گردد که باعث حذف عامل بیماریزا یا محصولات سمی آن از میزبان گردند. برای مثال، خنثی‌سازی یک سم محلول باکتریایی به آنتی‌بادی‌ها نیاز دارد، در حالی که پاسخ به یک ویروس داخل سلولی یا سلول باکتریایی به ازدیاد حساسیت تأخیری یا سیتوتوکسیسیته سلولی نیاز دارد. شواهد متعددی مبنی بر وجود تفاوت‌هایی در الگوی ترشح سایتوکاین توسط زیررده‌های سلول T_H به عنوان شاخصه‌ای برای نوع پاسخ ایمنی به یک پاتوژن خاص، وجود دارد.

سلول‌های $CD4^+T_H$ بیشتر فعالیت‌های کمکی خود از طریق ترشح سایتوکاین‌ها انجام می‌دهند، که یا بر روی خود سلول ترشp کننده (اتوکراین) و یا سلول‌های دیگر (پاراکراین) اثر دارند. با وجودی که CTLهای $CD8^+$ نیز سایتوکاین ترشح می‌کنند، ولی سایتوکاین‌های آنها محدودتر از سلول‌های $CD4^+T_H$ می‌باشد. همان طور که به طور خلاصه در فصل ۱۰ عنوان شد، دو زیر جمعیت از سلول‌های $CD4^+TH$ به نام‌های T_H1 و T_H2 در شرایط in vitro توسط سایتوکاین‌هایی که ترشح می‌کنند از یکدیگر قابل تشخیص می‌باشند. هر دو زیر رده IL-3 و GM-CSF را ترشح می‌کند ولی در سایر سایتوکاین‌ها با هم تفاوت دارند (جدول ۴-۱۲).

www.bbooks.ir

TABLE 12-4 Cytokine secretion and principal functions of mouse T_H1 and T_H2 subsets

Cytokine/function	T_H1	T_H2
CYTOKINE SECRETION		
IL-2	+	–
IFN-γ	++	–
TNF-β	++	–
GM-CSF	++	+
IL-3	++	++
IL-4	–	++
IL-5	–	++
IL-10	–	++
IL-13	–	++
FUNCTIONS		
Help for total antibody production	+	++
Help for IgE production	–	++
Help for IgG2a production	++	+
Eosinophil and mast-cell production	–	++
Macrophage activation	++	–
Delayed-type hypersensitivity	++	–
T_C-cell activation	++	–

SOURCE: Adapted from F. Powrie and R. L. Coffman, 1993, *Immunol. Today* 14:270.

سلول‌های T_H1 و T_H2 در اعمال زیر با هم تفاوت دارند:

- زیر رده T_H1 مسئول بسیاری از واکنش‌های سلولی مثل ازدیاد حساسیت تأخیری و فعالیت سلول‌های Tc و همچنین تولید آنتی‌بادی‌های اپسونیزه کننده IgG می‌باشد. این زیر رده همچنین با پیشبرد التهاب و آسیب‌بافتی ارتباط دارد.
- زیر رده T_H2 فعالیت ائوزینوفیل‌ها و تمایز آنها را تحریک کرده، به سلول‌های B کمک می‌کند و موجب تولید مقادیر بالای IgM، IgE و ایزوتایپ‌های غیرفعال کننده کمپلمان از IgG می‌گردد. زیر رده T_H2 همچنین در پیشبرد واکنش‌های آلرژیک مؤثری می‌باشد.

تفاوت‌های سایتوکاین‌های مترشحه توسط سلول‌های T_H1 و T_H2 تعیین کننده اعمال بیولوژیکی متفاوت این زیررده‌ها می‌باشد. IFN-γ که سایتوکاین معروف زیر رده T_H1 می‌باشد، موجب تحریک ماکروفاژها گشته، سطح MHC کلاس II را در آنها افزایش داده و آنها را وادار به ترشح IL-12 می‌کند که موجب القای تمایز سلول‌های T_H به زیررده T_H1 می‌گردد. ترشح IFN-γ توسط سلول‌های T_H1، همچنین موجب تغییر کلاس آنتی‌بادی به کلاس‌های IgG (مثل IgG2a در موش) که در تثبیت کمپلمان و فاگوستیوز دخالت دارند،

www.bbooks.ir

می‌گردد. INF-β و IFN-γ سایتوکاین‌های التهابی می‌باشند و ترشح آنها بخشی از دخالت سلول‌های T_H1 در پدیده‌های التهابی مثل ازدیاد حساسیت تأخیری می‌باشد (فصل ۱۵). سلول‌های T_H1 ، سایتوکاین‌هایی مثل IL-2، IFN-γ تولید می‌کنند که در تمایز پیش‌سازهای $CD8^+$ به سلول‌های سایتوتوکسیک Tc دخیل هستند. این الگوی تولید سایتوکاین، سلول‌های T_H1 را جهت پاسخ به عفونت‌های ویروسی و پاتوژن‌های داخل سلولی مناسب ساخته است. در پایان، IFN-γ از گسترش جمعیت T_H2 ممانعت به عمل می‌آورد.

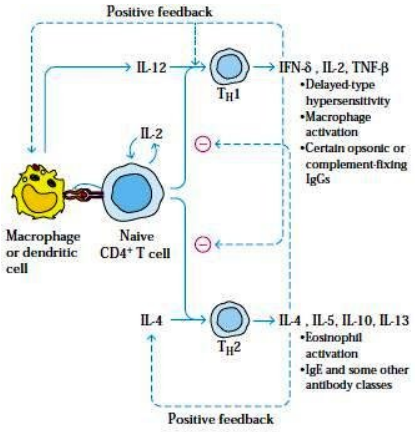
ترشح IL-4 و IL-5 توسط زیر رده T_H2 موجب القای تولید IgE و حمله به کرم‌های انگلی بواسطه سلول‌های ائوزینوفیل (کرم‌های حلقوی) می‌گردد. IL-4 باعث الگویی از تغییر کلاس آنتی‌بادی درجهت تولید IgGهایی که کمپلمان را فعال نمی‌کنند (مثل IgG1 در موش) می‌شود. IL-4 همچنین موجب تعویض کلاس در سلول‌های B از IgM به IgE می‌گردد. این اثر بر روی تولید IgE با تمایز و فعالیت ائوزینوفیل‌ها همراه می‌باشد (توسط IL-5)، زیرا ائوزینوفیل‌ها دارای مقادیر فراوانی از پذیرنده‌های Fcε بوده که به IgE اتصال می‌یابند. عفونت باکرم‌های حلقوی مشخصاً موجب برانگیختن پاسخ‌های T_H2 و IgE ضد کرم می‌گردد. آنتی‌بادی متصل شده به کرم موجب اتصال متقاطع پذیرنده‌های Fc ائوزینوفیل گردیده و در نتیجه تشکیل یک پل آنتی‌ژنی اختصاصی بین کرم و ائوزینوفیل می‌دهد. در راستای این فعالیت‌های سودمند IgE، این آنتی‌بادی، رده‌ای از ایمونوگلبولین بوده که در آلرژی دخالت دارد. در پایان، IL-4 و IL-10 از گسترش جمعیت‌های سلولی T_H1 ممانعت به عمل می‌آورند.

بنابر نتایج بدست آمده از آزمایشات متعددی که بر روی انسان و موش به انجام رسیده، حاصل پاسخ ایمنی در شرایط in vivo ، به شدت تحت تأثیر سطوح فعالیت سلول‌های T_H1یا T_H2 می‌باشد. معمولاً نمای سایتوکاینی T_H1 در پاسخ به پاتوژن‌های داخل سلولی، بالاتر بوده و نمای سایتوکاینی T_H2 در بیماری‌های آلرژیک و عفونت‌های کرمی بالاتر می‌باشد.

www.bbooks.ir

- شکل‌گیری زیر رده‌های TH1و TH2 با محیط سایتوکاینی مشخص می‌گردد

محیط سایتوکاینی که سلول‌های T_H تحریک شده با آنتی‌ژن در آن تمایز می‌یابند، تعیین کننده زیررده‌ای است که ایجاد خواهد شد (شکل ۱۲-۱۲).



شکل ۱۲-۱۲: تولید و تنظیم متقاطع زیرمجموعه های T_H به واسطه سایتوکاین.

IL-4 برای شکل‌گیری پاسخ‌های T_H2 و IFN-γ، IL-12 و IL-18 در فیزیولوژی تکامل سلول‌های T_H1 از اهمیت زیادی برخوردارند. شکل‌گیری T_H1 به شدت به IFN-γ وابسته بوده که موجب القای برخی تغییرات مثل افزایش تولید IL-12 توسط ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک و فعالیت پذیرنده IL-12 در سلول‌های T فعال شده با افزایش بیان زنجیره β پذیرنده IL-R می‌گردد. در ابتدای یک پاسخ ایمنی، IFN-γ در اثر تحریک سلول‌های T و همچنین سلول‌های NK فعال شده تولید می‌شود. منبع IL-12 که میانجی اصلی تمایز T_H1 می‌باشد، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیکی هستند که با یک باکتری یا انگل داخل سلولی و یا محصولات باکتریایی مثل LPS مواجه شده‌اند. سایتوکاین دیگر که IL-18 می‌باشد موجب تکثیر و همچنین تولید IFN-γ توسط هر دو شکل درحال تکامل و تمایز یافته سلول‌های T_H1 و سلول‌های NK می‌گردد. در نتیجه، شبکه‌ای تنظیمی از سایتوکاین‌ها تولید سلول‌های T_H1 را کنترل می‌کند. نقش حیاتی هر کدام از این

www.bbooks.ir

سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌هایشان در مطالعاتی که در آنها یا ژن سایتوکاین و یا ژن پذیرنده‌اش از کار افتاده بودند به اثبات رسیده است. چنین موش‌هایی قادر به تولید جمعیت‌های سلولی T_H1 نبودند.

در مطالعات اخیر، دو سایتوکاین جدید از خانواده IL-12 به نام‌های IL-23 و IL-27 مورد شناسایی قرار گرفته‌اند که کاربرد مهمی در تکامل سلول‌های T_H1 دارند. IL-23 دارای یک زنجیره مشترک با IL-12 (Il-12 p40) بوده و دو زنجیره هترودایمر IL-27 با انواعی که در IL-12 وجود دارند، شباهت دارند. IL-23 و IL-27 از نظر عملکرد شبیه Il-12 می‌باشند؛ تمامی آنها در تمایز زیر رده T_H1 شرکت می‌کنند و برخی از فعالیت‌هایی که قبلاً به IL-12 نسبت داده می‌شد ممکن است در اثر فعالیت IL-23 به تنهایی و یا همراه با IL-12 صورت پذیرند. همانطور که سلول‌های T_H1 به IL-12 و INF-γ نیاز دارند، تولید سلول‌های T_H2 نیز به شدت به TL-4 نیازمند می‌باشد. مواجهه سلول‌های کمک کننده دست نخورده با IL-4 موجب هدایت سلول‌های T_H به سمت T_H2 می‌گردد. نقش حیاتی پیام‌های ناشی از IL-4 در تکامل سلولهای T_H2 در مشاهداتی که ژن کدکننده IL-4 از کار افتاده بود و این زیر رده سلولT شکل نگرفتند، نشان داده شده است. شاهد دیگری مبنی بر نقش IL-4 در تکامل این سلول‌ها، آزمایشی است که مسیر انتقال پیام IL-4 از کار افتاده بود. همانند بسیاری از سایتوکاین‌های دیگر، IL-4 نیز از مسیری استفاده می‌کند که پروتئین‌های JAK و STAT را به خدمت می‌گیرد. از فاکتورهای نسخه‌برداری در انتقال پیام توسط IL-4 فعالیت دارد می‌توان به STAT6 اشاره کرد. در نتیجه در موش‌های فاقد STAT6، روندهای با واسطه IL-4 یا به شدت مهار شده و یا اصلاً وجود ندارند. مشاهده تعداد بسیار کم سلول‌های T_H2 را تأیید می‌کند. به همین صورت، تخریب STAT1 که توسط IFN-γ فعال می‌گردد، در تکامل زیر رده T_H1 تداخل ایجاد می‌کند.

www.bbooks.ir

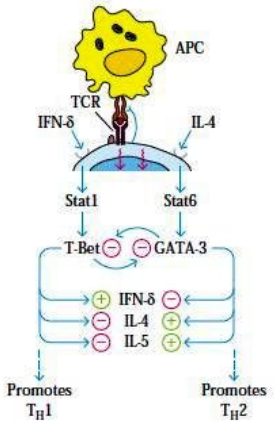
- تنظیم متقاطع نمای سایتوکاینی

سایتوکاین‌های حیاتی که توسط سلول‌های T_H1 و T_H2 تولید می‌شوند، اثـرات مهمـی بـر تکامل زیر رده‌ها دارند. اول این که موجب رشد و تولید زیر رده می‌گردند؛ دوم، از تکامل و فعالیت زیر رده دیگر ممانعت به عمل می‌آورند که این اثر، تنظیم متقاطع خوانده مـی‌شـود (شکل ۱۲-۱۲). برای مثال، IFN-γ (توسط زیر رده T_H1 ترشح مـی‌گـردد) ترجیحـاً تکثیـر سلول‌های T_H2 را مهار کرده و IL-4 و IL-10 (توسـط زیـر رده T_H2 ترشـح مـی‌گردنـد)، ترشح IL-12 که یکی از سایتوکاین‌های مهم در تکامـل T_H1 مـی‌باشـد را از ماکروفاژهـا و سلول‌های دندریتیک کاهش می‌دهند. به همین ترتیب، این سایتوکاین‌ها اثرات متضادی بـر سایر سلول‌ها به غیر از زیررده‌های T_H نیز دارند. به عنوان مثال در مـوش، IFN-γ موجـب تحریک تولید IgG2a و مهار تولید IgG1 و IgE توسط سلول‌های B مـی‌گـردد. در طـرف دیگر، IL-4 موجب تولید IgG1 و IgE و مهار تولید IgG2a می‌شود. بنابراین، پاسخ T_H1 یا T_H2 به نمای متفاوت آنتی‌بادی منجر خواهد شد. پدیده تنظیم متقاطع، این یافته را کـه در اغلب موارد بین تولید آنتی‌بادی و ایمنی سلولی یک رابطه معکوس وجود دارد، یعنی هنگامی که تولید آنتی‌بادی زیاد می‌باشد. ایمنی سلولی ضعیف است و بالعکس را توضـیح مـی‌دهـد. علاوه بر آن، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که IL-4 و IFN-γ ، پاسخ‌گویی سلول‌هـای ترشـح کننده خود را به سایتوکاین‌هایی که موجب تمـایز بـه زیـر رده دیگـر مـی‌گردنـد، کـاهش می‌دهند. بنابراین، IL-4 با کاستن حساسیت سلول‌های T_H به پیام‌های سایتوکاینی که منجـر به شکل‌گیری T_H1 می‌گردند، موجب تکامل زیر رده T_H2 می‌شود.

سومین زیر رده سلول‌های $CD4^+T$ ، نقش تنظیم‌کنندگی پاسخ‌های سلولی T را بـر عهـده داشته و قادر به محدود کردن فعالیـت خـود ایمنـی سـلول T مـی‌باشـد. ایـن زیـر رده را سلول‌های Treg می‌نامند که با بیان IL-4، IL-10 و TGF-β و تأثیرات سـرکوب‌کننـده در تماس با سلول‌های T هدف، مشخص می‌شوند. جزئیات مسـیرهای تکـاملی Treg، امـروزه تحت بررسی می‌باشند.

www.bbooks.ir

دو فاکتور نسخه‌برداری T-Bet موجب پیشبرد سلول‌ها به سمت T_H1 و مهار تمـایز آنهـا در مسیر T_H2 می‌گردد. بیان GATA-3 اثر متضادی داشته و موجب تمـایز سـلول‌هـای T دست نخورده به T_H2 و مهار تمایز به T_H1 می‌شود. همان‌طور کـه در شـکل ۱۳-۱۲نشـان داده شده است،



شکل ۱۳-۱۲: تنظیم متقاطع در سطح داخل سلولی. پیام های ناشی از TCR و پذیرنده های سایتوکاین تعیین می کنند که سلول، فاکتور نسخه برداری افزایش دهنده T_H1 (T-Bet) یا فاکتور نسخه برداری افزایش دهنده T_H2 (GATA3) را به وجود آورد.

سایتوکاین‌های IL-4 و IFN-γ تعیین کننده بیان T-Bet یا GATA-3 می‌باشند. درحضور IFN-γ ، بیان T-Betدر سلول‌های T افـــزایش و بیـــان GATA-3 کاهش می‌یـــابد. ایـن رونـــد وابسته به پذیرنده STAT1/IFN-γ نمای سایتوکاینی را به سمت تولیـد IFN-γ کـه سایتوکاین شاخص سلول‌های T_H1 می‌باشـد و همچنـین سـایر سـایتوکاین‌هـای T_H1 سـوق می‌هد. ولی در روندی که پذیرنده IL-4 و STAT6 فعالیت دارند، IL-4 موجب القای تولید IL-4 و سایر سایتوکاین‌های سلول T_H2 می‌گردد. تنظیم افزایشی T-Bet ، بیـان GATA-3 را سرکوب می‌کند. بـــه همین تـــرتیب، بیان GATA-3 نیز موجب تنظیم کاهشـی T-Bet

www.bbooks.ir

می‌گردد. در نتیجه، پیام‌های سایتوکاینی که یکی از این فاکتورهـای نسـخه‌بـرداری را فعـال کنند، مجموعه‌ای از وقایع را در پی خواهند داشت تا مسیر دیگر سرکوب گـردد. در سـطح داخل سلولی، تمایز سـلول T در مسـیر T_H1 از تکامـل سـلول‌هـای T_H2 ممانعـت کـرده و بالعکس.

تنظیم متقاطع سلول‌های T_H1 توسط IL-10 ترشح شده از سلول‌های T_H2 به صورت مهار مستقیم سلول‌های T_H1 نمی‌باشد؛ در عوض، IL-10 بر منوسیت‌ها و ماکروفاژها تأثیر داشته و در توانایی آنها در فعال کردن سلول‌های T_H1 تداخل ایجاد می‌کند. این تداخل به صورت کاهش بیان MHC کلاس II بر سطح این سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن می‌باشـد. IL-10 دارای یک اثر قدرتمند سرکوب‌کنندگی ایمنی دیگر نیز می‌باشد و آن مهـار تولیـد نیتریـک اکساید و سایر متابولیت‌های ضد باکتری توسط منوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌باشـد کـه ایـن متابولیت‌ها در تخریب پاتوژن‌ها دخالت دارند. اثر دیگر IL-10 سرکوب تولید میـانجی‌هـای التهابی مختلف مثل IL-1، IL-6 ، IL-8 ، GM-CSF ، G-CSF و INF-γ اسـت. ایـن آثـار مهاری بـر روی ماکروفاژهـا موجـب تضـعیف نتـایج بیولوژیـک فعالیـت سـلول‌هـای T_H1 می‌گردند.

- تعادل TH1/TH2 نتایج بیماری را تعیین می‌کند

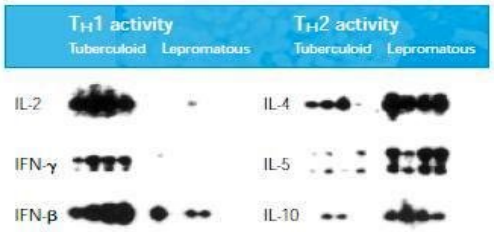
ممکن است پیشرفت برخی بیماری‌ها به تعادل بین زیـر رده‌هـای TH1 و TH2 بسـتگی داشته باشد. یک مثال مشخص در انسان، بیمـاری جـذام بـوده کـه عامـل ایجادکننـده آن مایکوباکترویوم لپره می‌باشد. این پاتوژن داخـل سـلولی مـی‌توانـد در داخـل فـاگوزوم‌هـای ماکروفاژها زنده بماند. جذام یک شکل بالینی واحد نداشته و در عوض به صـورت طیفـی از پاسخ‌های بالینی نمایان می‌شود که دو شکل اصلی لپروماتوز و توبرکولوئید در دو انتهای این طیف قرار دارند. **در جذام توبرکولوئید**[1]، یـک پاسـخ ایمنـی سـلولی موجـب شـکل‌گیـری

1- tuberculoid leprosy

www.bbooks.ir

گرانولوماها گردیده که منجر به تخریب اکثر مایکوباکتریوم‌ها می‌شود و در نتیجه تعداد کمی از آنها دربافت باقی می‌مانند. با وجودی که پوست و اعصب محیطی آسیب دیده‌اند، جذام توبرکولوئید رشد آهسته‌ای داشته و در اغلب موارد، بیماران زنده می‌مانند. در **جذام لپروماتوز**[1]، پاسخ ایمنی سلولی مهار شده و در عوض آنتی‌بادی‌های هومورال تشکیل می‌شوند که بعضی اوقات به صورت مقادیر بالای ایمونوگلبولین (هایپرگاماگلوبولینمی) دیده می‌شود. مایکوباکتریوم‌ها به شدت در ماکروفاژها گسترش یافته و اغلب تعداد آنها به بیش از $۱۰^{۱۰}$ در هر گرم از بافت می‌رسد. جذام لپروماتوز به صورت عفونت منتشر استخوان و غضروف همراه با آسیب گسترده بافت و عصب در خواهد آمد.

شکل‌گیری جذام لپروماتوز یا توبرکولوئید به تعادل T_H1 و T_H2 وابسته می‌باشد (شکل ۱۴-۱۲). درجذام توبرکولوئید، پاسخ ایمنی به صورت پاسخ T_H1 با ازدیاد حساسیت تأخیری و نمای سایتوکاینی متشکل از مقادیر بالای IL-2، IFN-γ و TNF-β می‌باشد.



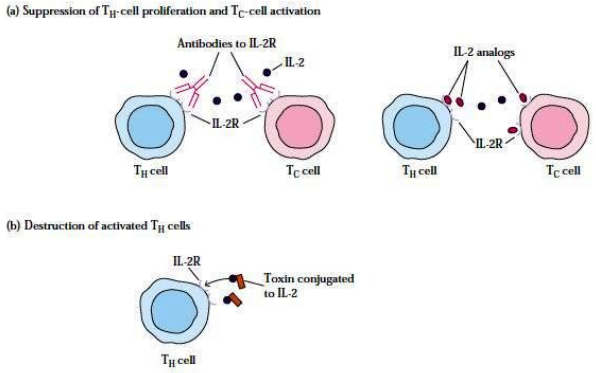
شکل ۱۴-۱۲: ارتباط بین نوع جذام و فعالیت نسبی T_H1 و T_H2.

در جذام لپروماتوز، پاسخ ایمنی از نوع T_H2 با مقادیر بالای IL-4، IL-5 و IL-10 خواهد بود.

1- lepromatous leprosy

www.bbooks.ir

شکل‌گیری جذام لپروماتوز یا توبرکولوئید به تعادل T_H1 و T_H2 وابسته مـی‌باشـد (شـکل ۱۵-۱۲).



شکل ۱۵-۱۲: عوامل درمانی وابسته به سایتوکاین، تنظیم گزینشی پاسخ ایمنی را موجب می شوند. (a) آنتی بادی منوکلونال ضد پذیرنده IL-2 به IL-2R سطح سلول متصل شده و مانع از برهمکنش سایتوکاین و پذیرنده می شود. (b) ترکیب یک توکسین با یک سایتوکاین، موجب تخریب سلول های عرضه کننده پذیرنده می شود.

در جذام توبرکولوئید، پاسخ ایمنی به صورت پاسخ T_H1 با ازدیـاد حساسـیت تـأخیری و نمای سایتوکاینی متشـکل از مقـادیر بـالای IL-2 ، IFN-γ و TNF-β مـی‌باشـد. در جـذام لپروماتوز، پاسخ ایمنی از نوع T_H2 با مقادیر بـالای IL-4، IL-5 و IL-10 خواهـد بـود. ایـن نمای سایتوکاینی، ایمنی سلولی تضعیف شده و افزایش تولید آنتی‌بادی را در جذام لپروماتوز توضیح می‌دهد.

شواهدی نیز مبنی بر تغییـرات فعالیـت زیـر رده‌هـای T_H در بیمـاری AIDS در دسـت می‌باشند. در مراحل ابتدایی بیماری، فعالیت T_H1 بالا می‌باشد ولی بـا پیشـرفت بـه سـمت AIDS، برخی محققین بر این باورند که تغییری از سمت پاسخ‌های T_H1 به سمت پاسخ‌های T_H2 ایجاد می‌شود. علاوه بر آن برخی پاتوژن‌ها نیز ممکن است بر فعالیت زیر رده‌های T_H تأثیر داشته باشند. برای مثال، ویروس اپشتین‌بار، همولوگ IL-10 انسانی به نام VIL-10 را

www.bbooks.ir

تولید می‌کند که فعالیت شبه IL-10 دارد. این تقلید ویروسی، همانند IL-10 سلولی از طریق تنظیم متقاطع موجب سرکوب فعالیت T_H1 می‌گردد. برخی محققین ، تصور می‌کنند که VIL-10با کاهش پاسخ ایمنی سلولی موجب بقای ویروس اپشتین بار می‌گردد.

- بیماری‌های مرتبط با سایتوکاین‌ها

نقایص شبکه‌های تنظیمی پیچیده که بیان سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌های آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهند، در تعدادی از بیماری‌ها دیده می‌شوند. نقایص ژنتیکی سایتوکاین‌ها، پذیرنده‌های آنها یا مولکول‌هایی که در انتقال پیام متعاقب اتصال سایتوکاین /پذیرنده دخیل هستند، منجر به کمبودهای ایمنی مثل کمبود ایمنی مختلط شدید (SCID) می‌گردند. سایر نقایص شبکه سایتوکاینی می‌توانند باعث عدم توانایی دفاع علیه برخی خانواده‌های خاص پاتوژن گردند. برای مثال، افرادی که در پذیرنده IFN-γ نقص دارند، مستعد عفونت‌های مایکوباکتریومی بوده که در جمعیت طبیعی به ندرت رخ می‌دهند. علاوه بر بیماری‌هایی که با نقایص ژنتیکی فعالیت سایتوکاین‌ها ارتباط دارند، برخی بیماری‌ها با بیان بیش از حد یا بیان کمتر از حد سایتوکاین‌ها یا پذیرنده‌های آنها مرتبط می‌باشند. مثال‌های متعددی از چنین بیماری‌هایی در زیر آورده شده است.

- شوک سپتیک شایع بوده و بالقوه کشنده می‌باشد

علیرغم کاربرد وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها، عفونت‌های باکتریایی عامل اصلی شوک سپتیک می‌باشند که ممکن است چند ساعت پس از عفونت با یک باکتری گرم منفی خاص مثل *E.coli*، *K.pneumoniae*، *P.aeroginosa*، *E.aerogenes* و *N. meningitidis* رخ دهد. علائم شوک سپتیک باکتریایی که اغلب کشنده می‌باشد، شامل افت فشار خون، تب، اسهال و لخته شدن گسترده خون در بسیاری از اعضا می‌باشد.

www.bbooks.ir

علت ایجاد شوک سپتیک باکتریـایی، اتصـال اندوتوکسـین دیـواره سـلولی باکتریـایی بـه TLRهای موجود بر سطح ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک می‌باشد که آنها را بـه تولیـد بیش از حد IL-1 و TNF-α وا می‌دارد. برای مثـال، در یـک مطالعـه، میـزان TNF-α در افرادی که در اثر مننژیت فوت کرده بودند، بالاتر از افراد بهبود یافته از بیماری بود. عـلاوه بر آن، تزریق TNF-α نوترکیب در غیاب عفونت باکتریایی گرم منفی به مـوش مـی‌توانـد موجب شرایط شبه شوک سپتیک باکتریایی در موش گردد. در مطالعـات متعـددی نشـان داده شده که خنثی‌سازی فعالیـت TNF-α و IL-1 توسـط آنتـی‌بـادی‌هـای منوکلونـال یـا آنتاگونیست‌های آنها از شکل‌گیری شوک‌کشنده جلوگیری می‌کند. هر چند که خنثی‌سـازی TNF-α در تمامی موارد از پیشرفت شوک سپتیک جلوگیری نمی‌کند و آنتی‌بادی‌های ضـد TNF-α فواید اندکی برای بیماران مبتلا به شوک سپتیک پیشرفته دارند.

شوک سپتیک باکتریایی یکی از حالاتی است که تحت عنوان سپسیس قرار می‌گیرد که نه تنها توسط عفونت‌های باکتریایی بلکه در اثر تروما، آسیب، ایسکمی(کاهش خونرسانی به یک عضو یا بافت) و سرطان‌های خاصی ایجاد می‌شود. سپسیس شایع‌ترین عامل مرگ در بخش مراقبت‌های ویژه بیمارستان‌های ایالات متحده بوده و مسئول ۹/۳٪ کل مـرگ‌هـای ایـالات متحده و سومین عامل مرگ در کشورهای توسعه یافته می‌باشد. خصیصـه شـایع سپسـیس بدون توجه به عامل آن، تولید شدید سایتوکاین‌های پـیش‌التهـابی مثـل TNF-α و IL-1β می‌باشد. به هم خوردن تعادل سایتوکاین‌ها اغلب موجب دما و میـزان تـنفس غیرطبیعـی و تعداد بالای گلبول‌های سفید خون و متعاقب آن نشـت مـویرگی، آسـیب‌بـافتی و نارسـایی کشنده عضو می‌گردد.

افزایش TNF-α و IL-1 به سرعت در اوایل سپسیس رخ مـی‌دهـد، در نتیجـه بیشـترین تأثیر خنثی‌سازی این سایتوکاین‌ها در مراحل ابتدایی می‌باشد. هر چند که ۲۴ ساعت پس از حمله سپسیس، سطوح TNF-α و IL-1 به شـدت کـاهش یافتـه و سـایر عوامـل، اهمیـت می‌یابند. سایتوکاین‌های مهم در مراحل بعدی شامل IL-6 ، MIF و IL-8 می‌باشند.

www.bbooks.ir

- عامل ایجاد کننده شوک سمی باکتریایی سوپر آنتی‌ژن‌ها می‌باشند

میکروارگانیسم‌های متنوعی، سمومی تولید کرده که به عنوان **سوپرآنتی‌ژن**[1] عمل می‌کنند، همان‌طور که در فصل ۱۰ توضیح داده شد، سوپر آنتی‌ژن‌ها به صورت همزمان بـه مولکـول MHC کلاس II و دومن Vβ پذیرنده سلول T اتصـال یافتـه و موجـب فعـال شـدن تمـام سلول‌های T که دارای یک دومن Vβ خاص هسـتند، مـی‌گردنـد (شـکل ۱۶-۱۰). بـدلیل توانایی اتصال منحصر به فرد سوپرآنتی‌ژن‌ها، این مولکول‌ها قادرند تعداد زیادی از سلول‌های T را بدون توجه به ویژگی آنتی‌ژنیکشان فعال کنند.

با وجودی که کمتر از ۰/۰۱٪ سلول‌های T به یک آنتی‌ژن مشخص پاسخ می‌دهنـد، ۵٪ و یا بیشتر از سلول‌های T به یک سـوپر آنتـی‌ژن مشـخص پاسـخ مـی‌دهنـد. نسـبت بـالای سلول‌های Tپاسخ‌دهنده به یک سوپر آنتی‌ژن خاص، بدلیل تعداد محدود ژن‌های TCR Vβ در رده زایا می‌باشد. برای مثال، موش‌ها تقریباً دارای ۲۰ ژن Vβ می‌باشند و در صورتی که بیان آنها به مقدار برابر انجام شده باشد، انتظار می‌رود که هر سوپر آنتی‌ژن بـا یکـی از ۲۰ سلول T میانکنش داشته باشد.

سوپر آنتی‌ژن‌های باکتریایی عامل ایجاد کننده بسیاری از بیمـاری‌هـا مثـل شـوک سـمی باکتریایی و مسمومیت غذایی می‌باشند. از بین تمام سوپر آنتی‌ژن‌های باکتریایی می‌توان بـه چندین سم روده‌ای، سم‌های پوسته پوسته کننده و سم سـندرم شـوک سـمی (TSST1) از استافیلوکوک اورئوس، اگزوتوکسین‌های تب‌زا از استرپتوکوک پیوژن و مـایع رویـی کشـت مایکوپلاسما آرترایتیس (MAS) اشاره کرد. تعداد بالایی از سلول‌های T فعال شـده توسـط این سوپرآنتی‌ژن‌ها اقدام به تولید مقادیر بـالای سـایتوکاین مـی‌کننـد. بـرای مثـال، TSST موجب القای مقادیر بسیار بالا از TNF-α و IL-1 می‌گـردد. هماننـد شـوک سـپتیک، ایـن غلظت‌های بالای سایتوکاین می‌توانند منجر به واکنش‌های سیستمیک مثل تب، لخته شـدن گسترده خون و شوک گردند.

1- superantigen

www.bbooks.ir

- فعالیت سایتوکاین‌ها در سرطان‌های میلوئید و لنفوئید

ناهنجاری‌های تولید سایتوکاین‌ها یا پذیرنده‌هایشان با برخی از انواع سرطان‌ها ارتباط دارد. برای مثال، ترشح مقادیر بالا و غیر طبیعی IL-6 توسط سلول‌های میکسومای قلبی (یک تومور قلبی خوش‌خیم)، میلوما و سلول‌های پلاسما سایتوما و همچنین سلول‌های سرطانی مثانه و گردن رحم قابل مشاهده می‌باشد. به نظر می‌رسد که در سلول‌های میلوما و پلاسما سایتوما، IL-6 به صورت اتوکراین عمل کرده و تکثیر سلولی را تحریک کند. با اضافه کردن آنتی‌بادی منوکلونال ضد IL-6 به کشت سلول‌های میلوما در شرایط in vitro رشد آنها مهار می‌شود. در طرف مقابل، در موش‌های ترانس ژنی که مقادیر بالای IL-6 را بیان می‌کنند تکثیر شدیدی را پلاسماسل‌ها دیده می‌شود که پلاسماسیتوز نام دارد. با وجودی که این پلاسماسل‌ها بدخیم نمی‌باشند، میزان بالای تکثیر پلاسماسل‌ها احتمالاً در شکل‌گیری سرطان نقش دارد.

- بیماری شاگاس توسط یک انگل ایجاد می‌شود

تک‌یاخته Trypanosoma cruzi عامل ایجاد کننده بیماری شاگاس می‌باشد که با سرکوب شدید ایمنی مشخص می‌گردد. توانایی T. cruzi در سرکوب ایمنی را می‌توان با کشت سلول‌های T خون محیطی در حضور و عدم حضور T.cruzi و سپس سنجش واکنش‌دهندگی ایمنی آنها، مشاهده کرد. در حالت طبیعی، آنتی‌ژن، میتوژن یا آنتی‌بادی منوکلونال ضد CD3 ، سلول‌های T محیطی را فعال می‌کنند ولی درحضور T.Cruzi، سلول‌های T با هیچ‌کدام از این مواد فعال نمی‌شوند. نقص این سلول‌های T بدلیل کاهش چشم‌گیر بیان زیر واحد α ۵۵ کیلودالتونی پذیرنده IL-2 (CD25) می‌باشد. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، پذیرنده IL-2 با میل ترکیبی بالا حاوی زیر واحدهای α، β و γ می‌باشد. زیرا واحد α برای اتصال به سایتوکاین، اختصاصی می‌باشد (شکل ۹-۱۲). کشت همزمان

www.bbooks.ir

سلول‌های T و T.cruzi و سپس رنگ‌آمیزی با anti-CD25 نشاندار شده با فلورسئین، که به زیر واحد α اتصال می‌یابد، مشخص کرده که سطح زیر واحد α ۹۰٪ کاهش یافته است.

با وجودی که مکانیسم سرکوب بیان CD25 توسط T.cruzi هنوز مشخص نمی‌باشد ولی این حالت، در صورت استفاده از یک فیلترکه مانع اتصال سلول T و تک یاخته گردد نیز القا می‌شود. این یافته‌ها پیشنهاد می‌کنند که یک فاکتور قابل انتشار، موجب سرکوب ایمنی می‌گردد. چنین فاکتوری در صورت جداسازی کاربردهای بالینی متعددی جهت تنظیم سطح سلول‌های T فعال شده در لوسمی‌ها و بیماری‌های خود ایمنی خواهد داشت.

- درمان‌های برپایه سایتوکاین

سایتوکاین های کلون شده خالص، آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌های محلول سایتوکاین‌ها به عنوان درمان‌های اختصاصی بالینی جهت تنظیم پاسخ‌های ایمنی کاربرد دارند. تعداد کمی ازدرمان‌های با واسطه سایتوکاین‌ها به خصوص اینترفرون‌ها، فاکتورهای تحریک‌کننده کلونی مثل GM-CSF و مهار کننده‌های فعالیت TNF جهت درمان برخی بیماری‌ها کاربرد دارند. علیرغم پتانسیل فراوان آنها، درمان توسط سایتوکاین‌ها در تمام زمینه‌ها موفقیت‌آمیز نبوده است. همان‌طور که در بالا اشاره شد، بلوک‌کنندهای TNF-α علاج کلی شوک سپتیک نمی‌باشند. زیرا شوک سپتیک، تنها توسط TNF-α ایجاد نمی‌شود. در طرف مقابل، پذیرنده محلول TNF-α (Enbrel) و آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد TNF-α (Humira, Remicade) جهت درمان آرتریت روماتوئید در بیش از یک میلیون بیمار کاربرد داشته‌اند. این داروهای ضد TNF-α آبشارهای سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و در نتیجه پاسخ‌های التهابی را کاهش می‌دهند. در کسانی که از آرتریت روماتوئید رنج می‌برند، این داروها موجب توقف درد، خشکی و تورم مفاصل و همچنین بهبود و ترمیم بافت می‌گردند. ولی این درمان، بدلیل کاهش فعالیت

www.bbooks.ir

سایتوکاین موجب افزایش احتمال ابتلا به عفونت خصوصاً سل و ذات‌الریه می‌گردد. مصرف طولانی مدت مهار کننده‌های TNF-α با افزایش خطر لنفوم همراه می‌باشد.

تعدیل کردن سایتوکاین‌ها جهت کاربردهای بالینی ایمن، با مشکلاتی همراه می‌باشد. یک مشکل، حفظ دوزهای مؤثر آنها در کاربردهای بالینی می‌باشد. طی یک پاسخ ایمنی، سلول‌های میانکنش‌دهنده، اقدام به تولید مقادیر بالای سایتوکاین در مجاورت سلول‌های هدف می‌کنند، ولی دستیابی به چنین غلظت‌هایی هنگامی که سایتوکاین‌ها به صورت سیستمیک تجویز می‌گردند، مشکل می‌باشد. به علاوه اغلب سایتوکاین‌ها دارای نیمه عمر بسیار کوتاهی بوده و جهت درمان به تجویزهای متوالی نیاز می‌باشد. برای مثال IL-2 نوترکیب انسانی، هنگامی که به صورت داخل وریدی تجویز گردد، نیمه عمری در حدود ۷ تا ۱۰ دقیقه خواهد داشت. در پایان، سایتوکاین‌ها تنظیم کننده‌های قدرتمند پاسخ‌های بیولوژیک بوده و می‌توانند موجب آثار جانبی ناخواسته و غیرمنتظره‌ای گردند. برای مثال، آثار جانبی IL-2 نوترکیب از خفیف مثل تب، لرز، اسهال و افزایش وزن تا شدید مثل کم‌خونی، کاهش تعداد پلاکت، شوک، مشکلات تنفسی و کما متغیر می‌باشند. علیرغم تمامی این مشکلات در یک کارآزمایی چند ملیتی بر روی IL-2 نوترکیب (Proleukin)، موفقیت‌هایی در زمینه بازگرداندن سلول‌های $CD4^+T$ در بیماران مبتلا به AIDS حاصل شده است (فصل ۲۰). تجویز سایتوکاین‌ها به این بیماران به صورت تزریق زیر پوستی ۲ بار در روز به مدت ۵ روز با فاصله زمانی هر ۸ هفته و همراه با داروهای ضد رتروویروسی بود. سطوح افزایش یافته سلول‌های $CD4^+$ در افرادی که IL-2 دریافت کرده بودند در مقایسه با کسانی که تنها داروهای ضد رتروویروسی دریافت کرده بودند بالاتر بود. آثار جانبی IL-2 در این رژیم دارویی به حداقل رسیده بود و به شکل علائم شبیه آنفولانزا و سفتی در محل تزریق دیده می‌شد.

تحقیقات دیگر در مورد استفاده بالینی سایتوکاین‌ها شامل، بلوک‌کردن پذیرنده سایتوکاین و استفاده از آنالوگ‌های سایتوکاین‌ها و کونژوگه‌های سایتوکاین باسم می‌باشند. برای مثال،

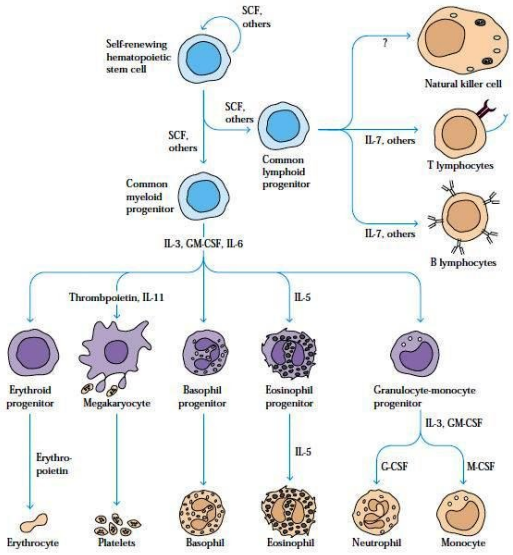
www.bbooks.ir

anti-CD25 که یک آنتی‌بادی منوکلونال بوده و به زیر واحد α پذیرنده IL-2 اتصال می‌یابد، قادر است تکثیر سلول‌های T_H فعال شده و فعالیت سلول‌های Tc را مهار کند (شکل ۱۵a-۱۲). تجویز anti-CD25 موجب طولانی‌تر شدن زمان بقای پیوندهای قلب در رت گردیده است. anti-CD25 در لوسمی سلول T بالغین که ممکن است در اثر عفونت رتروویروس انسانی HTLV-1 ایجاد شده باشد نیز کاربرد دارد. چنین نتایجی در مورد آنالوگ‌های IL-2 که توانایی اتصال به پذیرنده IL-2 را داشته، ولی فاقد فعالیت بیولوژیکی IL-2 هستند نیز بدست آمده است (شکل ۱۵a-۱۲). در پایان، سایتوکاین‌هایی که با سموم مختلفی کونژوگه شده‌اند (مثل زنجیره β سم دیفتری) موجب کاهش پس‌زدن پیوند کلیه و قلب حیوانات می‌گردند. کونژوگه‌های حاوی IL-2 به صورت انتخابی به سلول‌های T اتصال یافته و آنها را از بین می‌برند (شکل ۱۵b-۱۲).

- سایتوکاین‌ها در خونسازی

مطالعات ابتدایی که در استرالیا و اسرائیل انجام گرفت، نشان دادند که فاکتورهای محلولی، قادرند موجب رشد و تمایز گلبول‌های قرمز و سفید خون گردند. اولین فاکتور محلول شناخته شده ، اریتروپویتین بود که از ادرار افراد کم خون جداسازی شد و در تکامل گلبول‌های قرمز خون نقش داشت. پس از آن مشخص شد که بسیاری از سایتوکاین‌ها نقش‌های اساسی در خونسازی ایفا می‌کنند (جدول ۲-۱۵). در طی خونسازی، سایتوکاین‌ها به عنوان پیام‌های تکاملی عمل کرده که موجب متعهد شدن سلول‌های پیش‌ساز به سمت یک رده خاص می‌گردند.

www.bbooks.ir



شکل ۱۶-۱۲: سایتوکاین های خونساز و روند خونسازی.

همان‌طور که در شکل ۱۶-۱۲ نشان داده شده، یک پیش‌ساز میلوئید در حضور اریتروپویتین، مسیری را طی می‌کند که در نهایت به تولید گلبول‌های قرمز می‌انجامد؛ غلظت‌های مناسب گروهی از سایتوکاین‌ها شامل IL-3، GM-CSF، IL-1 و IL-6 باعث ورود سلول‌های پیش‌ساز به مسیرهای تمایزی می‌گردند که موجب تولید منوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و سایر لکوسیت‌های گروه میلوئید می‌شوند. شرکت لکوسیت‌ها در پاسخ‌های ایمنی، اغلب به مرگ آنها می‌انجامد. هر دو پاسخ ایمنی ذاتی و تطبیقی، سایتوکاین‌هایی را تولید می‌کنند، که تولید لکوسیت‌ها را تحریک می‌کنند. مراحلی که سایتوکاین‌ها در خونسازی دخالت می‌کنند در شکل ۱۶-۱۲ نشان داده شده است. سایتوکاین‌های خونساز که تولید نوتروفیل (G-CSF) ، سلول‌های میلوئید (GM-CSF) ، پلاکت‌ها (IL-11) و گلبول‌های قرمز (اریتروپویتین) را تحریک می‌کنند، همگی کاربرد بالینی داشته و اغلب به

www.bbooks.ir

عنوان درمان حمایتی بیماران مبتلا به کمبود ایمنی که در اثر نقایص ژنتیکی یا شیمی درمانی ایجاد شده باشد، به کار می‌روند.

- تمرکز بالینی

- درمان با اینترفرون‌ها

اینتروفرون‌ها یک گروه فوق‌العاده از پروتئین‌ها بوده خاصیت ضد ویروسی داشته و حدود ۵۰ سال پیش کشف شدند. مطالعات بعدی نشان دادند که اینترفرون‌ها دارای آثار دیگری مثل ظرفیت القای تمایز سلولی، مهار تکثیر برخی انواع سلولی، مهار رگ‌سازی و نقش‌های متنوع در تنظیم ایمنی نیز می‌باشند. آثار آنها بر روی سیستم ایمنی برجسته و مهم می‌باشد. اینترفرون‌ها موجب القای بیان مولکول‌های MHC کلاس I و II و فعالیت سلول‌های NK می‌گردند. افزایش بیان مولکول‌های کلاس I، افزایش عرضه آنتی‌ژن‌ها به سلول‌های $CD8^+$ را در پی خواهد داشت. این عرضه آنتی‌ژن نه تنها موجب مؤثرتر شدن سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن می‌گردد، بلکه آنها را به عنوان اهداف مناسب‌تری برای سلول‌های Tc تبدیل می‌کند. علاوه بر تنظیم افزایشی بیان مولکول‌های MHC کلاس I در بسیاری از انواع سلولی، اینترفرون گاما بیان مولکول‌های MHC کلاس II را نیز بر سطح APCهایی مثل ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک افزایش می‌دهد که این امر آنها را به عرضه کننده‌های بهتری به سلول‌های T_H تبدیل می‌کند. اینترفرون گاما همچنین یک فعال‌کننده قوی ماکروفاژها و شروع کننده عمومی پاسخ‌های التهابی می‌باشد. کلون کردن ژن‌های کد کننده هر سه نوع اینترفرون‌ها (IFN-γ, IFN-β, IFN-α) به صنعت بیوتکنولوژی این امکان را داده تا مقادیر بالایی از این سه اینترفرون را با قیمتی که برای استفاده بالینی مناسب باشد،تولید کند. برخی از کاربردهای بالینی هر کدام از اینترفرون‌ها در ادامه آمده است:

- IFN-α (با نام‌های تجاری Roferon و Intron A نیز شناخته می‌شود) برای درمان هپاتیت C و B به کار رفته است. همچنین کاربردهای متفاوتی در درمان سرطان دارد.

www.bbooks.ir

نوعی از لوسمی سلول B به نام لوسمی سلول مویی (بدلیل پوشیده شدن سلول‌های با زوائد سیتوپلاسمی مویی شکل) به IFN-α پاسخ خوبی می‌دهد. لوسمی میلوئید مزمن با افزایش تعداد گرانولوسیت‌ها مشخص می‌گردد و معمولاً در برابر درمان مقاوم می‌باشد. IFN-α یک درمان مؤثر برای این نوع از لوسمی در فاز مزمن بوده (میزان پاسخ ۷۰ درصدی گزارش شده است) و در بعضی از بیماران (در برخی مطالعات تا ۲۰٪ بیماران) بهبود کامل یافته‌اند. سارکوم کاپوسی که سرطانی است که اغلب در بیماران آمریکایی مبتلا به AIDS دیده می‌شود نیز به درمان IFN-α پاسخ می‌دهد. اکثر اثراتی که در بالا اشاره شد مربوط به کاربرد IFN-α به تنهایی می‌باشند ولی در کاربردهای خاص مثل درمان هپاتیت C معمولاً از آن همراه با داروهای ضد ویروسی مانند Ribavirin استفاده می‌شود زمان پاکسازی IFN-α با استفاده از پلی‌اتیلن گلایکول (PEG) طولانی‌تر شده است و این شکل از اینترفرون (Pegylated interferon) یا پگاسیس امروزه کاربرد زیادی دارد.

- IFN-β اولین داروی شناخته شده‌ای بود که موجب بهبود بالینی مالیتپل اسکلروزیس (MS) می‌گشت. بالغین جوان اولین اهداف این بیماری خود ایمن عصبی می‌باشند که در آن اعصاب سیستم عصبی مرکزی (CNS) میلین خود را از دست می‌دهند. این منجر به ناکارآمدی پیش‌رونده عصبی می‌گردد که در اکثر مواقع به فلج شدید می‌انجامد. این بیماری اغلب با دوره‌های عدم پیشرفت و بهبودی و عود مجدد مشخص می‌گردد. درمان با IFN-β دوره‌ای بهبودی را طولانی‌تر کرده و شدت عود را نیز کاهش می‌دهد. به علاوه، مطالعات آسیب‌های CNS بیماران درمان شده و درمان نشده توسط MRI مشخص ساخته که آسیب‌های ناشی از MS در گروه بیماران درمان شده با IFN-β از شدت کمتری برخوردار بودند.
- استفاده از IFN-γ جهت درمان بدخیمی‌های مختلف شامل، لنفوم غیرهوجکین، لنفوم سلول T پوستی و مولتیپل مایلوما از درجات مختلف موفقیت برخوردار بوده است.

www.bbooks.ir

موفق‌ترین کاربرد بالینی IFN-γ در درمان بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD) بوده است. CGD با اختلالات جدی سلول‌های فاگوسیتی در کشتن میکرب‌های بلعیده شده همراه می‌باشد و بیماران مبتلا به CGD از عفونت‌های مکرر تعدادی از باکتری‌ها (استاف‌اورئوس، کلبسیلا، سودوموناس و سایرین) و قارچ‌هایی مثل آسپرژیلوس و کاندیدا رنج می‌برند. قبل از درمان اینترفرون، درمان استاندارد این بیماری شامل تلاش برای جلوگیری از عفونت، تجویز تهاجمی آنتی‌بیوتیک و تخلیه آبسه‌ها توسط جراحی بود. اساس CGD ، نقص در تولید اکسیدانت‌های میکرب‌کش (H_2O_2، سوپراکسید و غیره) می‌باشد، و تجویز IFN-γ این نقص را جبران می‌کند. درمان بیماران CGD با IFN-γ به طور چشمگیری وقوع عفونت را کاهش می‌دهد. همچنین، عفونت‌هایی که ایجاد می‌شوند نیز از شدت کمتری برخوردار بوده و تعداد روزهای بستری شدن بیماران در بیمارستان کاهش می‌یابد.

- استفاده از IFN-γ در درمان اوستئوپتروز نیز که یک ناهنجاری مادرزادی بوده و رشد بیش از حد استخوان به کوری و کری می‌انجامد. مؤثر می‌باشد. مشکل دیگر در این بیماری که از رشد بیش از حد استخوان ناشی می‌شود، کاهش فضای لازم برای مغز استخوان و کاهش خونسازی می‌باشد که منجر به کم‌خونی می‌گردد. کاهش تولید گلبول‌های سفید علت افزایش استعداد ابتلا به عفونت می‌باشد.

کاربرد اینترفرون‌ها در آزمایشات بالینی، با فراگیری بیشتر آثار ترکیب آنها با سایر موارد دارویی گسترش می‌یابد. با وجودی که اینترفرون‌ها همانند سایر سایتوکاین‌ها تنظیم‌کنندگان پرقدرت پاسخ‌های ایمنی می‌باشند ولی آثار جانبی استفاده از آنها خفیف‌تر می‌باشد. آثار جانبی آنها شامل علائم شبیه سرماخوردگی مثل سردرد، تب، لرز و خستگی می‌باشند. این علائم را می‌توان با استامینوفن (Tylenol) برطرف نمود و شدت آنها را کاهش داد. با وجودی که سمیت اینترفرون معمولاً شدید نمی‌باشد ولی عواقب جدی مثل کم‌خونی و کاهش تعداد پلاکت و گلبول‌های سفید مشاهده شده است.

www.bbooks.ir

Cytokine-Based Therapies In Clinical Use		
Agent	Nature of agent	Clinical application
Enbrel	Chimeric TNF-receptor/IgG constant region	Rheumatoid arthritis
Remicade	Monoclonal antibody against TNF-α receptor	Rheumatoid arthritis
Interferon α-2a	Antiviral cytokine	Hepatitis B Hairy cell leukemia Kaposi's sarcoma
Interferon α-2b	Antiviral cytokine	Hepatitis C Melanoma
Interferon β	Antiviral cytokine	Multiple sclerosis
Actimmune	Interferon γ	Chronic granulomatous disease (CGD) Osteopetrosis
Neupogen	G-CSF (hematopoietic cytokine)	Stimulates production of neutrophils Reduction of infection in cancer patients treated with chemotherapy
Leukine	GM-CSF (hematopoietic cytokine)	Stimulates production of myeloid cells after bone-marrow transplantation
Neumega	Interleukin 11 (IL-11), a hematopoietic cytokine	Stimulates production of platelets
Epogen	Erythopoietin (hematopoietic cytokine)	Stimulates red-blood-cell production

- خلاصه

- سایتوکاین‌ها پروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم بوده که توسط انواع سلولی مختلفی تولید و ترشح می‌گردند. آنها نقش‌های اصلی را در القا و تنظیم میانکنش‌های سلولی در سیستم‌های ایمنی، التهابی و خونسازی برعهده دارند.
- در فعالیت‌های بیولوژیک سایتوکاین ها، هم اثری، چند اثری، سینرژی (هم‌افزایی)، آنتاگونیسم و در برخی موارد، القای آبشاری به چشم می‌خورد.
- از بیش از ۲۰۰ سایتوکاین مختلف، اکثراً در یکی از خانواده‌های زیر تعلق دارند؛ هماتوپویتین‌ها، اینترفرون‌ها، کموکاین‌ها و فاکتورهای نکروز دهنده تومور
- سایتوکاین‌ها عمل خود را با اتصال به پذیرنده‌های سایتوکاینی انجام می‌دهند که اکثر آنها را می‌توان به صورت زیر طبقه‌بندی کرد: پذیرنده‌های خانواده بزرگ ایمونوگلبولین، پذیرنده‌های سایتوکاین کلاس I و کلاس II، اعضای خانواده پذیرنده TNFو پذیرنده‌های کموکاین.
- یک سایتوکاین می‌تواند تنها بر سلولی که پذیرنده‌اش را بیان می‌کند تأثیر داشته باشد.

www.bbooks.ir

- مولتی‌مر شدن پذیرنده‌های سایتوکاینی کلاس I و II، مسیرهای انتقال پیام STAT / JAK را فعال می‌کند.
- تحریک آنتی‌ژنی سلول‌های T_H در حضور سایتوکاین‌های خاص می‌تواند منجر به شکل‌گیری زیر جمعیت‌هایی از سلول T_H گردد که به صورت T_H1 و T_H2 شناخته می‌شوند. هر کدام از این زیر رده‌ها مشخصات و نمای سایتوکاینی مخصوص به خود را دارند.
- نمای سایتوکاینی T_H1 از پاسخ‌های ایمنی که موجب هدایت فاگوسیت‌ها، CTLها و سلول‌های NK جهت حذف پاتوژن‌های داخل سلولی می‌گردند، حمایت می‌کند. سلول‌های T_H2 سایتوکاین‌هایی تولید می‌کنند که از تولید ایزوتایپ‌های خاص ایمونوگلبولین و پاسخ‌های با واسطه IgE حمایت می‌کنند.
- درمان‌های توسط سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌های آنها وارد مرحله بالینی گشته‌اند.

www.bbooks.ir

- سئوالات درسی

۱-صحیح یا غلط بودن هر کدام از جملات زیر را مشخص کنید. در صورتی که به تصور شما جمله‌ای غلط می‌باشد دلیل آن را توضیح دهید.

الف) پذیرنده IL-2 با میل ترکیبی بالا از دو پروتئین که عرض غشا را طی کرده‌اند تشکیل شده است.

ب) آنتی‌بادی منوکلونال ضد TAC، پذیرنده IL-1 را بر سطح سلول‌های T شناسایی می‌کند.

پ) تمامی پذیرنده‌های سایتوکاینی از دو یا سه زیر واحد تشکیل شده‌اند.

ت) بیان زیر واحد β پذیرنده IL-2 نشان‌دهنده فعالیت سلولی T می‌باشد.

ث) برخی پذیرنده‌های سایتوکاینی دارای دومن‌هایی با فعالیت تیروزین کینازی بوده که در انتقال پیام دخالت دارند.

ج) تمام اعضای هر زیر خانواده از پذیرنده‌های سایتوکاینی کلاس I (هماتوپویتین) در یک زیر واحد انتقال پیام با هم مشترک می‌باشند.

۲-هنگامی که IL-2 توسط یک سلول T در یک عضو لنفاوی محیطی ترشح می‌گردد، آیا تمامی سلول‌های T مجاور در پاسخ به IL-2 تکثیر می‌یابند یا تنها برخی از آنها تکثیر می‌شوند؟ توضیح دهید.

۳-به صورت خلاصه شباهت‌ها و تفاوت‌های میان سایتوکاین‌ها، فاکتورهای رشد و هورمون‌ها را شرح دهید.

۴-مشخص کنید که کدام یک از زیرواحد(های) پذیرنده IL-2 توسط سلول‌های زیر بیان می‌شود.

الف)---------- سلول‌های Tدر حال استراحت

ب)---------- سلول‌های T فعال

www.bbooks.ir

پ)---------- سلول‌های T فعال + سایکلوسپورین A

ت)---------- سلول‌های Tc در حال استراحت

ث)---------- CTLها

ج)---------- سلول‌های NK

۵-سوپرآنتی‌ژن‌ها در بسیاری از بیماری‌ها دخالت داشته و به عنوان ابزارهای تحقیقاتی کاربرد دارند.

الف)کدام خصوصیات سوپرآنتی‌ژن‌ها آنها را از آنتی‌ژن‌های معمولی متمایز می‌سازند؟

ب)سوپر آنتی‌ژن‌های باکتریایی با چه مکانیسمی علائم مرتبط با مسمومیت غذایی و سندرم شوک سمی را ایجاد می‌کنند؟

پ)آیا فعالیت سوپرآنتی‌ژن‌ها مشمول محدودیت MHC می‌شود؟

۶-IL-3، IL-5 و GM-CSF دارای هم‌اثری قابل توجهی در آثار خود می‌باشند. کدام ویژگی ساختاری پذیرنده‌های این مولکول‌ها مسئول این هم‌اثری می‌باشد؟

۷-دو زیر رده از سلول‌های T_H وجود دارند که از نظر الگوی ترشح سایتوکاین با هم تفاوت دارند.

الف)زیررده T_H1 باعث کدام نوع از پاسخ ایمنی می‌گردد؟ برخورد با کدام نوع از آنتی‌ژن‌ها موجب القای پاسخ با واسطه T_H1 می‌گردد؟

ب)زیر رده T_H2 باعث کدام نوع از پاسخ ایمنی می‌گردد؟برخورد با کدام نوع از آنتی‌ژن‌ها موجب القای پاسخ با واسطه T_H2 می‌گردد؟

۸-درست یا غلط بودن هر کدام از جملات زیر را مشخص کنید. در صورتی که به تصور شما جمله‌ای غلط می‌باشد دلیل آن را توضیح دهید.

www.bbooks.ir

الف) IL-1 کبد را به منظور تولید پروتئین‌های فاز حاد تحریک می‌کند که پاسخ ایمنی را پس از عفونت‌های ویروسی خاموش می‌کنند.

ب) سایتوکاین‌ها بسیار قدرتمند بوده و در غلظت‌های نسبتاً پایینی بیان می‌شوند، بنابراین آنها تنها بر سلول‌هایی که در نزدیکی سلول ترشح کننده قرار دارند، تأثیر گذار هستند.

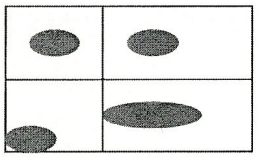
پ)پاسخ دادن یا ندادن یک سلول به سایتوکاین به این که کدام یک از زیرواحدهای پذیرنده سایتوکاین را بیان کرده و میزان بیان پذیرنده بر سطح سلول، بستگی دارد.

ت)سلول‌های T_H1 سایتوکاین‌هایی ترشح می‌کنند که منجر به افزایش تولید ائوزینوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها در مغز استخوان می‌گردند.

ث)IL-4 از تمایز سلول‌های T0 به سلول‌های T_H1 ممانعت به عمل می‌آورند.

ج) فعال شدن سلول‌های Tمنجر به ترشح IL-1 و پذیرنده آن بر سطح سلول‌های T می‌گردد.

۹-شکل زیر نتیجه فلوسایتومتری سلول‌های خونی انسان را نشان می‌دهد. سلول‌ها با آنتی‌بادی خرگوش ضد زیر واحدα پذیرنده IL-2 انسان که با FITC کونژوگه شده‌اند رنگ‌آمیزی شده (محور Y) و در محور x نیز سلول‌ها با آنتی‌بادی موشی ضد زیر واحد γ پذیرنده IL-2 انسان که با PE کونژوگه شده رنگ‌آمیزی شده‌اند. کدام ربع سلول‌های بیان کننده پذیرنده با میل ترکیبی متوسط را نشان می‌دهد؟



۱۰-برای هر کدام از سایتوکاین‌های زیر، آثاری را که ممکن است در اثر تولید آنها ایجاد شوند را مشخص کنید.

www.bbooks.ir

۱- فعال کردن ماکروفاژها

۲- افزایش چسبندگی سلول‌های دیواره عروق

۳- تکامل سلول‌های T_H1

۴- تکامل سلول‌های T_H2

۵- تولید ائوزینوفیل‌ها

۶- تولید PBC

۷- القای پروتئین‌های فاز حاد

۸- تغییرات ایزوتایپ به IgE

۹- تکامل لنفوسیت‌ها

الف) IL-1

ب) Il-4

پ)IL-7

ت) IL-5

ث) اریتروپویتین

ج) IFN-γ

چ) IL-25

۱۱-جاهای خالی را در هر جمله پرکنید:

الف)سایتوکاین ---------- موجب تغییر کلاس به IgE در سلول‌های B می‌گردد.

ب)---------- سایتوکاین‌های کموتاکتیک می‌باشند.

پ) آبشار انتقال پیام با اتصال کموکاین‌ها به پذیرنده‌هایشان که شامل ---------- ---------- می باشند آغاز می‌شود.

ت)---------- جهت تکامل لنفوسیت‌ها طی خونسازی ضروری می باشد.

ث) در صورتی که یک سلول هر سه زیر واحد پذیرنده IL-2 را بیان کند، قادر خواهد بود که به غلظت‌های ---------- GM-CSF پاسخ دهد.

www.bbooks.ir

ج)---------- سایتوکاینی است که شما انتظار دارید در شخص مبتلا به عفونت ویروسی، افزایش داشته باشد.

۱۲-کدام یک از جملات زیر در مورد سلول‌های TH1 صحیح نمی‌باشد؟

الف)آنها در ازدیاد حساسیت تأخیری دخالت دارند.

ب)سلول‌های Tc را فعال می‌کنند.

پ) موجب التهاب می‌گردند.

ت) با تغییر کلاس به IgE موجب واکنش‌های آلرژیک می‌شوند.

۱۳-کدام یک از جملات زیر در مورد IFN-γ صحیح می‌باشد؟

الف) موجب تمایز سلول‌های Tc می‌گردد.

ب) فعالیت ضد میکربی ماکروفاژها را افزایش می‌دهد.

ت)تمایز T0 به T_H2 را مهار می‌کند.

ث)به سلول‌های B جهت تولید ایزوتایپ‌هایی از IgG که اپسونیزه کننده‌های خوبی هستند، کمک می‌کند.

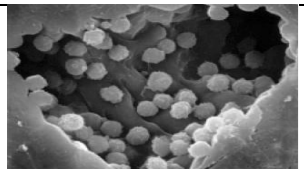
www.bbooks.ir

فصل سیزدهم

فعال شدن و مهاجرت لکوسیت‌ها

- مولکول‌های چسبان سلولی
- کموکاین‌ها
- خروج لکوسیت‌ها از رگ
- بازگردش لنفوسیتی
- خروج لنفوسیت از رگ
- سایر واسطه‌های التهابی
- فرآیند التهاب
- عوامل ضد التهابی

www.bbooks.ir



با حمله مهاجمان به بدن، سلول‌های سیستم ایمنی برای دفاع، گردهم می‌آیند. سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی، دفاع اولیه‌ای را ترتیب می‌دهند و به دنبال آن، پاسخ ایمنی اکتسابی دفاع طولانی مدتی را تشکیل می‌دهد. لوکوسیت‌ها پیوسته بدن ما را با مهاجرت از طریق سیستم‌های در گردش، مورد بررسی قرار می‌دهند. با ایجاد عفونت، این سلول‌ها از خلال سدهای خونی گذشته و به محل عفونت مهاجرت می‌کنند.

التهاب یکی از پاسخ‌های پیچیده به جراحات موضعی یا سایر آسیب‌ها می‌باشد که با سرخی، گرما، تورم و درد مشخص می‌شود. همان‌طور که در فصل ۱۳ اشاره شد، انواع مختلفی از سلول‌های سیستم ایمنی و همچنین بسیاری از واسطه‌ها، در فرآیند التهاب دخیل می‌باشند. تنظیم پاسخ‌های التهابی[1]، بدون کنترل مهاجرت جمعیت‌های لوکوسیتی امکان پذیر نمی‌باشد. این فصل، مولکول‌ها و روندهای اصلی در مهاجرت لوکوسیت‌ها، مولکول‌های مختلف دخیل در التهاب و تغییرات فیزیولوژیک طی پاسخ‌های التهابی را در بر می‌گیرد.

- مولکول‌های چسبان سلولی

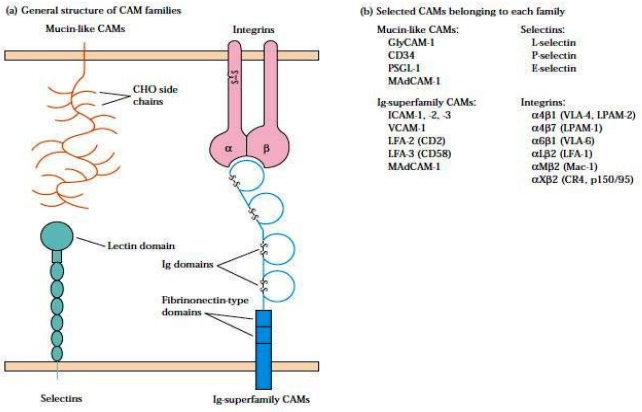
با میانکنش‌های مولکولی بین سلول‌ها، بافت‌های بدن در کنار یکدیگر نگه‌داشته می‌شوند. سلول‌های ایمنی در این مورد، منحصر به فرد بوده و می‌توانند از یک مکان به مکان دیگر مهاجرت کنند. مولکول‌هایی که بافت‌های ما را کنار هم نگه می‌دارند، **مولکول‌های چسبان سلولی[2] (CAMs)** نام داشته و لوکوسیت‌ها جهت میانکنش با سلول‌های بافتی از آنها بهره می‌گیرند.

1- inflammatory responses
2- cell adhesion molecules

www.bbooks.ir

اندوتلیوم عروقی در تنظیم حرکت مولکول‌های خونی و لکوسیت‌ها به داخل بافت، نقش مهمی برعهده دارند. برای ورود لکوسیت‌های در گردش به بافت‌های التهابی یا اندام‌های لنفاوی محیطی، سلول‌ها بایستی به سلول‌های اندوتلیال عروق خونی چسبیده و از خلال آنها عبور نمایند؛ به این فرآیند، **خروج از رگ** اتلاق می‌شود. سلول‌های اندوتلیال CAMهای ویژه لکوسیتی را عرضه می‌کنند. لنفوسیت‌ها، منوسیت‌ها و گرانولوسیت‌های در گردش، حاوی پذیرنده‌هایی برای اتصال به CAMهای عرضه شده برروی سلول‌های اندوتلیال می‌باشند که این سلول‌ها را به خروج از رگ و حرکت به سمت بافت‌ها قادر می‌سازند.

علاوه بر نقش اتصال لکوسیت‌ها به سلول‌های اندوتلیال، CAMهای سطح لکوسیت‌ها سبب افزایش قدرت برهمکنش سلول‌های ایمنی نیز می‌گردند. مولکول‌های چسبان متنوعی در واکنش بین سلول‌های T_H و APCها، T_H و سلول‌های B و CLTو سلول‌های هدف شناخته شده‌اند، اکثر این CAMها متعلق به چهار خانواده پروتئینی زیر می‌باشند؛ خانواده سلکتین، خانواده شبه موسین، خانواده اینتگرین و خانواده بزرگ Ig (شکل ۱-۱۳).



شکل ۱-۱۳: دیاگرام شماتیکی از ساختارهای عمومی چهار خانواده مولکول های چسبان سلولی.

www.bbooks.ir

- **سلکتین‌ها**[1]، خانواده‌ای از گلیکوپروتئین‌های غشایی می‌باشند که دومن خارج سلولی شبه لکتین موجود در آنها به برخی از گروههای کربوهیدراتی اتصال می یابد. سلکتین‌ها عمدتاً به کربوهیدرات‌های حاوی اسید سیالیک با نام سیالیل‌لویس X اتصال می‌یابند. خانواده سلکتین‌ها حاوی سه مولکول L، E و P سلکتین (به ترتیب CD62L، CD62E و CD62P) می‌باشند. بیشتر لکوسیت‌های در گردش، L سلکتین را عرضه می‌کنند، در حالی که P و E سلکتین روی سلول‌های اندوتلیال و در حین پاسخ‌های التهابی عرضه می‌شوند. P سلکتین در نوعی از گرانول‌های سلول‌های اندوتلیال به نام دانه‌های ویبل پالاد ذخیره می‌شود. در صورت فعال شدن سلول‌های اندوتلیال، این گرانول‌ها به غشای پلاسمایی الحاق یافته و P سلکتین در سطح سلول عرضه می‌شود. عرضه E سلکتین مستلزم ساخت پروتئین‌های جدید می‌باشد که پس از تحریک سلول‌های اندوتلیال توسط سایتوکاین‌های پیش‌التهابی صورت می‌گیرد. مولکول‌های سلکتین، مسئول آغاز چسبندگی لکوسیت‌ها به اندوتلیوم عروقی می‌باشند.
- **موسین‌ها**[2]: گروهی از پروتئین‌های به شدت گلیکوزیله غنی از سرین و ترئونین می‌باشند. ساختمان آنها به گونه‌ای می‌باشد که سیالیل لویس X و سایر کربوهیدرات‌های سولفاته در معرض قرار گرفته و به عنوان جایگاه اتصال برای سلکتین‌ها عمل می‌کنند. برای مثال،L سلکتین (CD62L) لکوسیت‌ها به CD34 و GlyCAM-1روی سلول‌های اندوتلیال اتصال می‌یابد. سایر مولکول‌های شبه موسین (PSGL-1P) روی نوتروفیل‌ها بوده و قادرند به P و E سلکتین عرضه شده روی اندوتلیوم ملتهب متصل شوند.

۱- sellectins
2- mucins

www.bbooks.ir

- **اینتگرین‌ها**[1]: پروتئین‌های هترودایمر حاوی زنجیره‌های α و β می‌باشند که با اتصال غیر کووالان به یکدیگر اتصال یافته و در سطح سلول قرار دارند. اغلب اینتگرین‌ها به مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی متصل می‌شوند. برخی از زیر خانواده‌ها به مولکول‌های چسبان سطح سلول متصل شده و در واکنش‌های سلول – سلول شرکت دارند. لکوسیت‌ها زیر خانواده خاصی از اینتگرین‌ها تحت عنوان β2 اینتگرین (اینتگرین CD18) را در سطح خود عرضه می‌کنند. همچنین سایر اینتگرین‌ها روی انواع مختلف سلولی عرضه می‌شوند. β_2 اینتگرین‌ها همانند سایر پروتئین‌های دخیل در پاسخ‌های التهابی، به خانواده بزرگ Ig غشایی اتصال می‌یابند (جدول ۱-۱۳).

TABLE 13-1 Some interactions between cell adhesion molecules implicated in leukocyte extravasation*

Receptor on cells	Expression	Ligands	Extravasation step†
PSGL-1	Neutrophils	P-selectin (CD62P), Sialyl-Lewis^x	Rolling/tethering
L-selectin (CD62L)	Leukocytes	GlyCAM-1, CD34, MAdCAM-1	Rolling/tethering
CD11a/CD18 (αLβ2, LFA-1)	Leukocytes	ICAM-1, 2	Tight adhesion
CD11b/CD18 (Mac-1)	Monocytes, neutrophils, macrophages	ICAM-1, iC3b, fibrinogen	Tight adhesion
CD49d/CD29 (α4β1, VLA-4)	Lymphocytes, monocytes	VCAM-1, fibronectin	Tight adhesion
α4β7	Lymphocytes	VCAM-1, MAdCAM-1, Fibronectin	Adhesion

*Most endothelial and leukocyte CAMs belong to four groups of proteins, as shown in Figure 13-1. In general, molecules in the integrin family bind to Ig-superfamily CAMs and molecules in the selectin family bind to mucin-like CAMs.
†See Figures 13-3a and 13-8 for an illustration of steps in the extravasation process.

ترکیبی از اینتگرین‌های عرضه شده روی یک نوع سلول، اتصال این سلول به CAMهای مختلف سلول‌های اندوتلیال عروقی را امکان پذیر می‌سازد. تجمع اینتگرین‌ها روی سطح سلول سبب افزایش احتمال اتصال مؤثر گردیده و در مهاجرت لکوسیت‌ها نقش دارند. اهمیت مولکول‌های اینتگرین در خروج لکوسیت‌ها از رگ در بیماری نقص چسبندگی لکوسیتی۲ نوع ۱ (LAD)که یک نقص اتوزومال مغلوب می‌باشد، مشخص می‌گردد.

1- integrins
۲- leukocyte adhesion deficiency

www.bbooks.ir

مشخصه این بیماری ابتلا به عفونت‌های راجعهٔ باکتریایی و نقص در بهبود زخم‌ها می‌باشد. یک نقص مشابه در افرادی که ناتوان از عرضه سلکتین‌ها می‌باشند دیده می‌شود که LADنوع ۲ نام دارد.

- **CAMهای خانواده بزرگ Ig (ICAMs)**:[1] چندین مولکول چسبان حاوی تعداد متغیری از دومن‌های شبه Ig می‌باشند که در خانواده بزرگ Ig طبقه‌بندی می‌شوند. این گروه شامل : ICAM-1(CD54)، ICAM-2(CD102)، ICAM-3(CD50) و VCAM(CD106) می‌باشند که در سطح سلول‌های اندوتلیال عروق عرضه شده و به اینتگرین‌های مختلف متصل می‌شوند. مولکول چسبنده منحصر به فرد MADCAM-1 هردو دومن شبه ایمونوگلبولین و شببه موسین را دارا می‌باشد. این مولکلول بر روی اندوتلیوم مخاطی عرضه شده و ورود لنفوسیت‌ها به مخاط را رهبری می‌کند. این مولکول به واسطه دومن شبه Ig به اینتگرین α4β7(LPAM) و با دومن شبه موسین خود به L سلکتین متصل می‌گردد. مولکول چسبان پلاکت – اندوتلیال نوع ۱(CD31,PECAM-1) بر سطح نوتروفیل‌ها، منوسیت‌ها و گروهی از لنفوسیت‌های T و محل اتصال سلول‌های اندوتلیال عرضه می‌شود و خاصیت اتصال به هم نوع را دارا می‌باشد، به این معنی که مولکول PECAM-1 روی یک سلول می‌تواند به PECAM-1 روی سایر سلول‌ها اتصال یابد. مولکول چسبان اتصالات محکم (JAM-1 یا CD321) نیز در محل اتصال بین سلول‌های اندوتلیال قرار دارد. JAM-1 می‌تواند به مولکول‌های JAM-1 و CD11a/CD18 اتصال یافته و در مهاجرت از میان اندوتلیال نقش داشته باشد. اتصال به هم‌نوع، در میان اعضای خانواده بزرگ Ig سایر سلول‌ها مثل L1 و NCAMسلول‌های عصبی نیز می‌تواند وجود داشته باشد.

1- Ig superfamily CAMS

www.bbooks.ir

کموکاین‌ها

خانواده بزرگی از پلی‌پپتیدهای کوچک می‌باشند که اغلب از زیر واحدهای ۹۰ تا ۱۳۰ اسید آمینه‌ای تشکیل شده‌اند. آنها به طور انتخابی، چسبندگی، کموتاکسی و فعال‌سازی بسیاری از جمعیت‌های لکوسیتی را کنترل می‌کنند ودر نتیجه تنظیم کننده‌های اصلی عبور و مرور لکوسیتی می‌باشند. برخی کموکاین‌ها در مراحل ابتدایی فرآیندهای التهابی دخالت دارند و برخی دیگر که دائماً بیان می‌شوند، نقش‌های مهم هومئوستازی و تکوینی دارند. کموکاین‌های دائمی دربافت‌ها و اعضای لنفاوی یا غیر لنفاوی مثل پوست تولید شده و عبور و مرور طبیی لکوسیت‌ها را هدایت می‌کنند؛ بدین صورت که به عنوان اهدافی برای رسیدن لکوسیت‌های تازه ساخت به محل مناسب خود عمل می‌کنند. تیموس، پیوسته برخی از کموکاین‌ها را تولید می‌کند ؛ همچنین تولید سلول‌های B نیز وابسته به عرضه مناسب کموکاین‌ها می‌باشد. اثرات با واسطه کموکاین‌ها تنها محدود به سیستم ایمنی نمی‌باشد. موش های فاقد کموکاین CXCL12(SDF-1) یا پذیرنده آن، نقایص عمده‌ای در تکوین قلب و مغز نشان می‌دهند (جدول ۲-۱۳).

همچنین اعضای خانواده کموکاین‌ها در رگ‌زایی و بهبود زخم‌ها نقش تنظیمی دارند.

معمولاً کموکاین‌های التهابی در اثر پاسخ‌های التهابی القا می‌شوند. در اثر تماس با پاتوژن یا در اثر فعالیت سایتوکاین‌های التهابی مثل TNF-α، عرضه کموکاین‌های التهابی افزایش می‌یابد. کموکاین‌ها از طریق القای چسبندگی لکوسیت‌ها به اندوتلیوم عروق، موجب حرکت آنها به داخل بافت‌ها می‌گردند. پس از مهاجرت به بافت، لکوسیت‌ها به سمت غلظت‌های بالای کموکاین‌ها حرکت می‌کنند. تجمع لکوسیت‌ها در محل عفونت، توسط کموکاین‌ها هدایت می‌شود که یکی از ملزومات پاسخ مناسب متمرکز به عفونت است.

www.bbooks.ir

TABLE 13-2 Human chemokines and their receptors*

Chemokine receptors	Chemokines bound by receptor
	CXC SUBGROUP
CXCR1	IL-8 (CXCL 8), GCP-2 (CXCL6)
CXCR2	IL-8 (CXCL8), Gro-α (CXCL1), Gro-β (CXCL2), Gro-γ (CXCL3), NAP-2 (CXCL7), ENA-78 (CXCL5)
CXCR3	IP-10 (CXCL10), Mig (CXCL9), I-TAC (CXCL11)
CXCR3b	PF4 (CXCL4), IP-10 (CXCL10), Mig (CXCL9), I-TAC
CXCR4 (CXCL11)	SDF-1 (CXCL12)
CXCR5	BCA-1 (CXCL13)
CXCR6	CXCL16-transmembrane cytokine
	CC SUBGROUP
CCR1	MIP-1α (CCL3), RANTES (CCL5), MCP-2 (CCL8) MCP3(CCL7), MRP2 (mCCL9), MCP4 (hCCL13), HCCL1 (CCL14), HCC2, (hCCL15), HCC4 (CCL16), MPIF1 (hCCL23)
CCR2	MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MCP4 (hCCL13), MCP5 (mCCL12), HCC4 (CC16)
CCR3	Eotaxin (CCL11), RANTES (CCL5), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MCP-4 (hCCL13), Eotaxin-2 (hCCL24), HCC2 (hCCL15), Eotaxin-3 (hCCL26), MEC (CCL28)
CCR4	TARC (CCL17), MDC (CCL22)
CCR5	MIP-1α (CCL3), RANTES (CCL5), MIP-1β (CCL4), MCP2 (CCL8), Eotaxin (CCL11), HCCI (CCL14), HCC4 (CCL16)
CCR6	MIP3α (LARC, CCL20)
CCR7	ELC (MIP3β, CCL19), SLC (CCL21)
CCR8	1-309 (CCL1)
CCR9	TECK (CCL25)
CCR10	CTAK (CCL27), MEC (CCL28)
	BOTH CC AND CXC SUBGROUPS
DARC (the Duffy antigen of RBCs)	Binds to a number of CC and CXC chemokines
	C SUBGROUP
XCR1	Lymphotactin (XCL1), SCM1b (hXCL2)
	CX3C SUBGROUP
CX3CR1	Fractalkine-transmembrane chemokine (CX3CL1)

*This table lists most known chemokine receptors but not all chemokines. The full names for a number of the chemokines abbreviated in the table are as follows: ELC (Ebl1 ligand chemokine); ENA-78 (epithelial-cell-derived neutrophil-activating protein); GCP-2 (granulocyte chemotactic protein 2); Gro-α, -β, -γ (growth-related oncogene α, β, γ); MCP-1, -2, -3, or -4 (monocyte chemoattractant protein 1, 2, 3, or 4); Mig (monokine induced by interferon γ); MIP-1α, -1β, or -5 (macrophage inflammatory protein 1α, 1β, or 5); NAP-2 (neutrophil-activating protein 2); RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted); TARC (thymus-and activation-regulated chemokine).

SOURCE: Adapted from Nelson and Krensky, 1998, *Current Opinion Immunology* **10**:265; Baggiolini, 1998, *Nature* **392**: 565; and Cyster, 2005, *Annual Review of Immunology* **23**: 127.

خانواده کموکاین‌ها حداقل دارای ۴۳ عضو می‌باشد که در جدول ۳-۱۳ به آنها اشاره شده است. کموکانی‌ها دارای چهار جزء سیستئین حفاظت شده می‌باشند و براساس موقعیت دو سیستئین از این چهار تا، اغلب در یکی از دو زیر گروه زیر طبقه‌بندی می‌شوند:

- زیر گروه CC کموکاین‌ها، که سیستئین‌های حفاظت شده پیوسته می‌باشند.

www.bbooks.ir

- زیر گروه CXC کموکاین‌ها، که سیستئین‌های حفاظت شده به واسطه سایر اسید آمینه‌ها (X) از هم جدا شده‌اند استثناهای این مورد CX3CL1 (سه اسید آمینه میان سیستئین‌های حفاظت شده قرار داشته) و XCL1,2 (فاقد دو مورد از چهار سیستئین حفاظت شده می‌باشند) هستند.

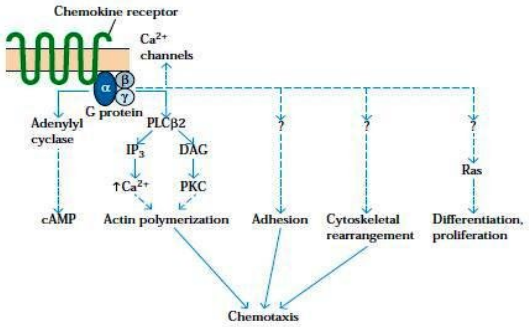
TABLE 13-3 Redundant and pleiotropic effects of IL-1, TNF-a, and IL-6

Effect	IL-1	TNF-α	IL-6
Pyrogenic (fever inducing)	+	+	+
Synthesis of acute-phase proteins by liver	+	+	+
Increased vascular permeability	+	+	+
Increased adhesion molecules on vascular endothelium	+	+	−
Fibroblast proliferation	+	+	−
Platelet production	+	−	+
Chemokine induction (e.g., IL-8)	+	+	−
Induction of IL-6	+	+	−
T-cell activation	+	+	+
B-cell activation	+	+	+
Increased immunoglobulin synthesis	−	−	+

عملکرد کموکاین‌ها از طریق پذیرنده‌هایی انجام می‌شود که این پذیرنده‌ها زنجیره‌های پلی‌پپتیدی بوده که ۷ بار غشا را طی کرده‌اند. این پذیرنده‌ها از اعضای خانواده پذیرنده‌های همراه با پروتئین G بوده و بر مبنای سایتوکاینی که به آن اتصال می‌یابد، طبقه‌بندی می‌شوند. پذیرنده‌های CC (CCRs) کموکاین‌هایCC و پذیرنده‌های CXC (CXCRs) کموکاین‌های CXCرا شناسایی می‌کنند. همانند سایتوکاین‌ها، واکنش کموکاین و پذیرنده‌هایشان بسیار قوی ($kd>10^{-9}$) و اختصاصی می‌باشد.

با اتصال پذیرنده به کموکاین مناسب، پروتئین‌های هتروترایمر بزرگ G را فعال کرده و انتقال پیام از طریق مولکول‌های پیام رسان ثانویه مثل cAMP، IP_3، CA^{2+} و پروتئین‌های Gکوچک آغاز می‌شود (شکل ۲-۱۳).

www.bbooks.ir

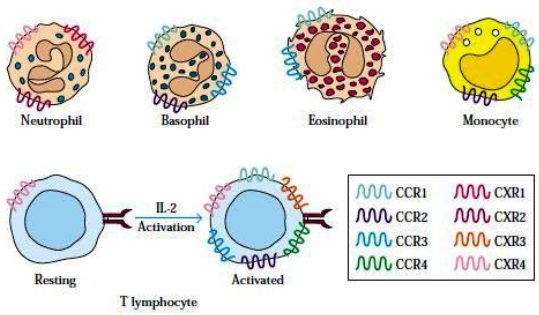


شکل ۲-۱۳: کموکاین ها از طریق پذیرنده های متصل به پروتئین های بزرگ هتروترایمر G پیام رسانی می‌کنند.

تغییرات عمده‌ای طی آغاز مسیرهای انتقال پیام توسط کموکاین‌ها ایجاد می‌شود. در حضور کموکاین مناسب، تغییرات سریع و وسیعی در شکل لکوسیت‌ها ایجاد می‌شود و این امر سبب افزایش قدرت چسبندگی آنها به دیواره عروق می‌شود؛ همچنین سبب تولید رادیکال‌های اکسیژن میکرب‌کش و رها سازی محتویات گرانولی از نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها، هیستامین از بازوفیل‌ها و پروتئین‌های سلول‌کش از ائوزینوفیل‌ها می‌شود.

- فعال سازی لکوسیت‌ها با واسطه انواع پذیرنده‌های کموکاینی

در میان جمعیت لکوسیت‌های انسانی، نوتروفیل‌ها CXCR1، 2، 4 و ائوزنیوفیل‌ها CCR1 و 3 را عرضه می‌کنند (شکل ۳-۱۳).



شکل ۳-۱۳: الگوهای عرضه برخی پذیرنده های کموکاینی در انواع لکوسیت های انسانی.

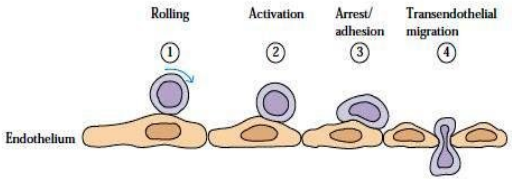
www.bbooks.ir

اگر چه سلول‌های Tدست نخورده و در حال استراحت CCR7 را عرضه می‌کنند ولی این مولکول‌ها در Tهای فعال شده که دارای CCR1، 4، 5 و 8 وCXCR3می‌باشند، حضور ندارند. عرضه پذیرنده‌های کموکاینی متفاوت بر روی لکوسیت‌ها و تولید کموکاین‌های مختلف در بافت‌ها، تمایز جمعیت‌های لکوسیتی و امکان ورود انتخابی آنها به این بافت‌ها را امکان‌پذیر می‌سازد.

همان‌طور که زیر گروه‌های TH1 و TH2 سلول‌های T، بوسیله تفاوت در الگوی سایتوکاین‌های تولیدی خود از هم متمایز می‌شوند، این زیر گروهها از الگوهای پذیرنده‌های کموکاینی متفاوتی نیز برخوردارند. سلول‌های TH2، CCR4 و 8 و سایر پذیرنده‌هایی که توسط سلول‌های TH1 تولید نمی‌شوند را عرضه می‌کنند و سلول‌های TH1نیز CCR1،5 و CXCR3 را بیان می‌کنند که توسط بیشتر سلول‌های TH2 عرضه نمی‌شوند.

- خروج لکوسیت‌ها از رگ، فرآیندی چند مرحله‌ای می‌باشد.

در طی پاسخ التهابی، سایتوکاین‌های مختلف و سایر واسطه‌های التهابی بر روی عروق خونی ناحیه اثر گذاشته و سبب افزایش عرضه CAMهای اندوتلیالی می‌شوند. سپس لکوسیت‌ها از رگ به سمت بافت‌های خارج شده به جایگاه عفونت مهاجرت می‌کنند. خروج لکوسیت‌ها از رگ می‌تواند به چهار مرحله تقسیم شود (شکل ۴-۱۳):



شکل ۴-۱۳: چهار مرحله متوالی اما همپوشان در روند خروج لکوسیت ها از عروق. (۱) غلتیدن اولیه بواسطه اتصال مولکول های سلکتین به بنیان های کربوهیدراتی سیالیله بر روی CAM های شبه موسین صورت می گیرد. (۲) سپس کموکاین ها به پذیرنده های همراه پروتئین G بر روی لکوسیت ها متصل شده و یک پیام فعال کننده را به وجود می آورند که موجب تغییر ساختار اینتگرین ها می شود. (۳) و آنها را قادر می سازد تا به مولکول های خانواده بزرگ Ig بر روی اندوتلیوم متصل شوند. (۴) لکوسیت ها اتصال محکمی با اندوتلیال برقرار کرده و به بافت زیرین مهاجرت می کنند.

www.bbooks.ir

۱- غلتیدن با واسطه سلکتین‌ها

۲- فعال شدن با واسطه تحریک کموکاین‌ها

۳- توقف و چسبیدن با واسطه اتصال اینتگرین‌ها به اعضای خانواده Ig

۴- عبور از میان اندوتلیال

در مرحله اول، لکوسیت‌ها بواسطه واکنش با میل پیوندی کم کربوهیدرات- سلکتین، به طور ضعیف به اندوتلیال متصل می‌شوند. در طی پاسخ‌های التهابی، سایتوکاین و سایر واسطه‌های روی اندوتلیال ناحیه اثر گذاشته و سبب عرضه مولکول‌های چسبانی مثل خانواده سلکتین‌ها می‌شود. این مولکول‌ها (P، E سلکتین) به مولکول‌های شبه موسین غشای لکوسیت‌ها یا لاکتوزآمینوگلیکان‌های سیالیله به نام سیالیل لویسX اتصال می‌یابند. پیوند سستی بین لکوسیت‌ها و سلول‌های اندوتلیال برقرار می‌شود، اما نیروی ناشی از جریان خون، آنها را جدا می‌کند. مولکول سلکتین سطح سلول اندوتلیال دیگر، دوباره لکوسیت را به دام می‌اندازد. این فرآیند آن‌قدر تکرار می‌شود تا سلول در طول اندوتلیوم به صورت غلتان در آید.

فرآیند غلتیدن نشان می‌دهد که سلول، برای واکنش بین پذیرنده کموکاین سطح لکوسیت با کموکاین (جدول ۲-۱۳) موجود در سطح اندوتلیوم، زمان کافی در اختیار دارد. تنوع کموکاین های عرضه شده روی اندوتلیوم و گنجینه پذیرنده‌های آنها روی لکوسیت‌ها سبب فراخوانی اختصاصی لکوسیت‌ها به جایگاه عفونت می‌شود. انتقال پیام ایجاد شده در نتیجه اتصال کموکاین به پذیرنده، موجب تغییر شکل و تجمع اینتگرین‌ها روی لکوسیت‌ها می‌شود. این وقایع به سلول امکان می‌دهد تا با قدرت بیشتری به اندوتلیوم اتصال یابد و توسط جریان خون دور نشود.

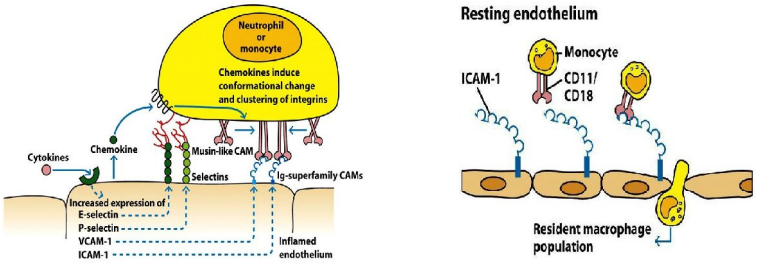
لکوسیت از میان دو سلول اندوتلیال مجاور عبور می‌کند. این عمل با اتصال به هم نوع مولکول چسبان PECAM-1 اندوتلیال و PECAM-1 لکوسیت‌ها انجام می‌شود. -PECAM

www.bbooks.ir

1 معمولاً در محل اتصال بین سلول‌های اندوتلیال حضور دارد. بنابراین، زمانی که PECAM-1 لکوسیت به PECAM-1 اندوتلیال اتصال می‌یابد، تمامیت اتصال حفظ می‌شود. JAM-1 یکی دیگر از مولکول‌های چسبان موجود دراتصالات محکم بین اندوتلیال‌ها می‌باشد که به CD11a/CD18 لکوسیت‌ها متصل شده و خروج آنها از جریان خون از میانجی‌گری می‌کند.

- خروج نوتروفیل از رگ

نوتروفیل‌ها معمولاً اولین سلول‌هایی می‌باشند که به اندوتلیوم ملتهب اتصال یافته و از رگ خارج می‌شوند و در غیاب عفونت بدلیل عدم عرضه P و E سلکتین، از رگ خارج نمی‌شوند (شکل ۵-۱۳).



شکل ۵-۱۳: مراحل خروج نوتروفیل ها و منوسیت ها از عروق.

زمانی که سلول‌های اندوتلیوم ملتهب می‌شوند، P سلکتین از دانه‌های ویبل پالاد رها شده و در سطح سلول قرار می‌گیرد. نوتروفیل، L سلکتین و شبه موسین PSGL-1 (در غلتیدن روی اندوتلیوم ملتهب دخیل است) را عرضه می‌کنند. با غلتیدن نوتروفیل‌ها، توسط انواع مختلف کموکاین‌ها فعال می‌گردند. دو کموکاین مهم در مرحله فعال‌سازی، IL-8 و پروتئین التهابی ماکروفاژ-۱ نوع β (MFP-1β) می‌باشند. اتصال آنها به نوتروفیل‌ها سبب ایجاد پیام فعال سازی می‌شود که موجب تغییر در اینتگرین‌های غشای نوتروفیل شده و میل پیوندی

www.bbooks.ir

آنها جهت اتصال به مولکول‌های چسبان خانواده بزرگ Ig(ICAMs) روی اندوتلیوم را افزایش می‌دهند. نوتروفیل‌ها CDlla/CD18، CDllb/CD18 (LFA-1, MAC-1) را عرضه می‌کنند. اندوتلیوم در حال استراحت مقادیر اندکی از ICAM-1(CD59) را عرضه می‌کند که به LFA-1،MAC-1 های فعال شده متصل می‌شود. در نهایت، نوتروفیل‌ها از خلال رگ‌ها به سمت بافت مهاجرت می‌کنند. شیب غلظت کموکاین‌ها، نوتروفیل‌ها را تا رسیدن به جایگاه عفونت راهنمایی می‌کند. اتصال C5a، پپتیدهای باکتریایی حاوی N–فرمیل متیونین و همچنین اتصال لکوترین ها به پذیرنده‌های سطح نوتروفیل‌ها، مسئول مهاجرت مستقیم و فعال‌سازی این سلول‌ها می‌باشند.

- خروج منوسیت‌ها از رگ

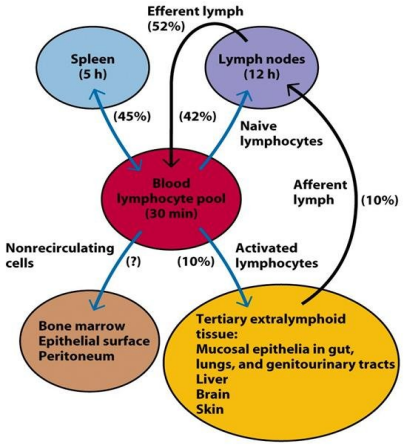
خروج از رگ منوسیت‌های در گردش نسبت به نوتروفیل‌ها، با تاخیر صورت می‌گیرد، زیرا افزایش عرضه VCAM-1 و ICAM-1 توسط اندوتلیوم ملتهب به زمان نیاز دارد (شکل ۵-۱۳). اندوتلیوم در حال استراحت مقادیر اندکی VCAM-1 را عرضه کرده که لیگاندی برای اینتگرین α4β1 (CD49d/ CD29 یا VLA-4) می‌باشد. زیر گروهی از منوسیت‌ها از این طریق برای بازسازی ذخیره ماکروفاژهای ساکن وارد بافت‌های غیر ملتهب می‌شوند. تصور می‌شود کموکاین CXCL14 این مهاجرت لکوسیت‌ها را تسهیل می‌کند. زمانی که عرضه ICAM-1 و VCAM-1سطح سلول‌ها افزایش یافت، اتصال و مهاجرت به بافت‌های ملتهب منوسیت‌های خون، کارآمد تر صورت می‌گیرد. غلتیدن بواسطه L سلکتین صورت گرفته و اینتگرین‌ها بواسطه کموکاین‌های ویژه منوسیت‌ها به خصوص پروتئین جاذب منوستی نوع ۱ (MCP-1 یا CCL2) فعال می‌شوند. همانند نوتروفیل‌ها، مهاجرت از خلال اندوتلیوم بواسطه واکنش بین PECAM-1 و PECAM-1 صورت می‌گیرد. منوسیت‌ها توسط جاذبین شیمیایی مثل قطعات باکتریایی واجزای کمپلمان به ناحیه عفونت جذب می‌شوند. پذیرنده‌های کمپلمان روی منوسیت‌ها شامل

www.bbooks.ir

CR3(MAC-1،αMβ2، CD11b/CD18) و CR4 (p150.95، αMβ2، CD11b/CD18) می‌باشند. در میان بافت‌های هدف،منوسیت‌ها می‌توانند به ماکروفاژ تمـایز یافتـه و در آن بافت فعال شوند.

- بازگردش لنفوسیتی

برخلاف سایر لکوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها از طریق گـردش خـون و لنـف، پیوسـته و در بـین اندام‌های لنفاوی در حال حرکت می‌باشند (شکل۶-۱۳).



شکل ۶-۱۳: مسیرهای گردش لنفوسیتی و درصد گنجینه لنفوسیتی در زمان های مختلف و جایگاه های مختلف نشان داده شده است. لنفوسیت ها از طریق مناطق تخصص یافته در مویرگ های کوچکی تحت عنوان وریدچه های با اندوتلیوم بلند (HEVs) به غدد لنفاوی مهاجرت می کنند.

پس از یک حضور موقتی (حدود ۳۰ دقیقه) در گردش خون، نزدیک ۴۵٪ لنفوسـیت‌هـا مستقیماً به طحال رفته و حدود ۵ ساعت در آنجا بـاقی مـی‌ماننـد. تقریبـاً همـین تعـداد از لنفوسیت‌ها نیز (۴۲٪) از خون به گره‌های لنفاوی محیطی وارد شده و حدود ۱۲ سـاعت در

www.bbooks.ir

آنجا باقی می‌مانند. شمار اندکی از لنفوسیت‌ها (۱۰٪) از میان سلول‌های اندوتلیال عروقی عبور کرده و به ساختارهای ثالث فوق لنفاوی مهاجرت می‌کنند؛ این بافت‌ها حاوی مقادیر اندکی از لنفوسیت‌ها بوده مگر این که طی پاسخ‌های التهابی، ورود آنها افزایش یابد. اغلب بافت‌های در معرض محیط‌های خارجی مثل پوست و اپی‌تلیوم مخاطی مجاری گوارشی، تنفسی و تناسلی ساختارهای ثالث فوق لنفاوی فعالی دارند.

فرآیند گردش پیوسته لنفوسیت‌ها، شانس برخورد آنتی‌ژن با لنفوسیت اختصاصی آن را به حداکثر می‌رساند. هر لنفوسیت در هر روز ۱ یا ۲ بار گردش کامل خود را انجام می‌دهد. از آنجایی که از هر $۱۰^{۵}$ لنفوسیت تنها یک لنفوسیت قادر به شناسایی یک آنی‌ژن خاص می‌باشد، به نظر می‌رسد که تعداد زیادی از سلول‌های B یا T می‌بایست با آنتی‌ژن یا سلول عرضه کننده آن در زمان کوتاهی برخورد کنند این درصد ناچیز و عجیب لنفوسیت‌های اختصاصی آنتی‌ژن، حقیقتاً با آنتی‌ژن برخورد می‌کنند و آن هم هنگامی که حضور این لنفوسیت‌ها بواسطهٔ بازگردش وسیع لنفوسیت‌ها افزایش یافته باشد.

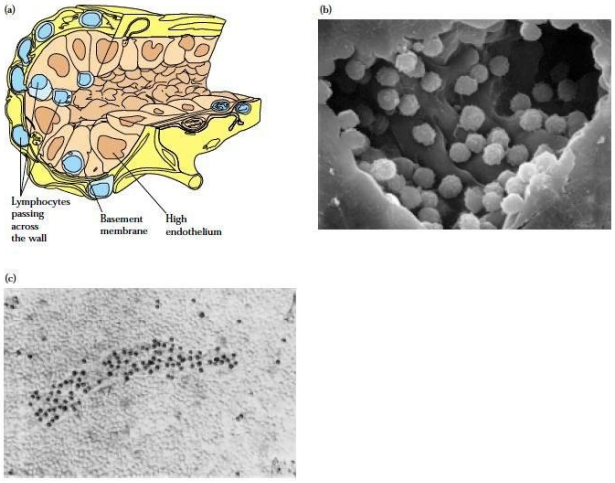
- خروج لنفوسیت‌ها از رگ

زیر گروه‌های مختلفی از لنفوسیت‌ها در جایگاههای التهابی و اعضای لنفاوی ثانویه از رگ خارج می‌شوند. بازگردش لنفوسیت‌ها به دقت کنترل می‌شود در نتیجه،فراخوانی جمعیت سلول‌های B و T را به بافت‌های مختلف تضمین می‌کند. همانند نوتروفیل‌ها، پدیده خروج لفنوسیت‌ها از رگ بواسطه میانکنش مولکول‌های چسبان صورت می‌گیرد (جدول ۱-۱۳)کل فرآیند، شامل چهار مرحله غلتیدن، فعال شدن،توقف و چسبیدن و در نهایت مهاجرت از خلال سلول‌های اندوتلیال می‌باشد.

www.bbooks.ir

- وریدچه‌های با اندوتلیوم بلند، جایگاه خروج لنفوسیت‌ها از رگ می‌باشند

برخی مناطق اندوتلیوم عروقی در وریدچه‌های پس مویرگی اندام‌های لنفی مختلف، از سلول‌های فربه و مکعبی شکل (بلند) تشکیل شده‌اند؛ چنین مناطقی **وریدچه‌های با اندوتلیوم بلند**[1] **(HEV)** نامیده می‌شوند (شکل ۷-۱۳).



شکل ۷-۱۳: (a) دیاگرام شماتیک مقطع یک ورید پس مویرگی با اندوتلیوم بلند در غده لنفی. (b) میکروگراف الکترونی نگاره از لنفوسیت های متعدد متصل به HEV ها. (c) میکروگراف مقطع فریز شده بافت لنفوئیدی.

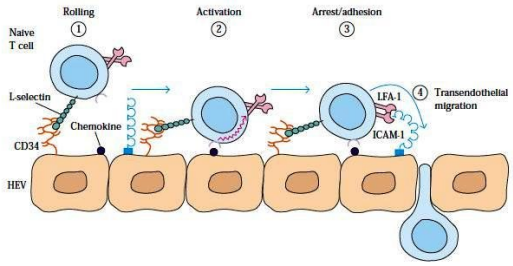
این سلول‌ها از لحاظ ظاهری در مقایسه با سلول‌های اندوتلیالی سطحی قابل تمایز می‌باشند. تمامی اندام‌های لنفاوی ثانویه به جز طحال، دارای HEV می‌باشند.

تخمین زده می‌شود که میزان $۱/۴ \times ۱۰^{۴}$ لنفوسیت در هر ثانیه از میان HEVیک گره لنفی عبور می‌کنند. تمایز و حفظ ساختار HEVها در اعضای لنفاوی تحت تأثیر سایتوکاین‌ها می‌باشد. به عنوان مثال اگر توسط جراحی، عروق لنفاوی آوران گره را قطع کنیم، در مدت کوتاهی HEV عملکرد خود را از دست داده و به شکل مسطح باز می‌گردد.

1-high endothelial venules

www.bbooks.ir

HEVها مولکول‌های چسبان متنوعی را عرضه می‌کنند. مشابه سایر سلول‌های اندوتلیال عروقی، HEVها مولکول‌های چسبان خانواده سلکتین(P و E سکلتین)، خانواده شبه موسین (GlyCAM-1 , CD34) و خانواده بزرگ Ig (ICAM-3, ICAM-2, ICAM-1, MadCAM-1) را عرضه می‌کنند. برخی مولکول‌های چسبان در بافت‌های خاصی توزیع شده‌اند که به آنها آدرسین‌های عروقی (VAs) اتلاق می‌شود.



شکل ۸-۱۳: مراحل خروج یک سلول T دست نخورده از HEV و ورود آن به یک غده لنفی.

شکل ۸-۱۳ واکنش‌های معمول پدیده خروج از رگ سلول‌های T دست نخورده از خلال HEVها و ورود آنها به گره‌های لنفاوی را به تصویر کشیده است. اولین مرحله، معمولاً با واکنش بین کربوهیدرات، سلکتین آغاز می‌شود. لنفوسیت‌های دست نخورده از طریق L سلکتین به HEV اتصال می‌یابند؛ این سلکتین،پذیرنده لانه گزینی می‌باشد ولنفوسیت‌ها را به بافت‌های خاصی حاوی آدرسین‌های عروقی مثل CD34 یا GlyCAM-1 هدایت می‌کنند. پدیده غلتیدن در مورد لنفوسیت‌ها کمتر ازنوتروفیل‌ها به کار می‌رود. اگرچه اتصال اولیه کربوهیدرات – سلکتین کاملاً ضعیف می‌باشد اما سرعت کم گردش خون در HEV احتمال جدا شدن لنفوسیت‌ها را کاهش می‌دهد.

در قدم بعدی، فعال سازی اینتگرین با واسطه کموکاین‌ها که روی سطوح اندوتلیال تجمع یافته‌اند، انجام می‌گیرد. گلیکوکالیکس ضخیم سطح HEV در نگهداری عوامل جاذب شیمیایی روی HEV نقش دارد. اتصال کموکاین به پذیرنده با واسطه پروتئین G همراه این

www.bbooks.ir

پذیرنده منجر به فعال شدن مولکول‌های اینتگرین غشایی این لکوسیت می‌شود. بـــه محض فعال شدن،واکنش بین مولکول‌های اینتگرین و مولکول‌هایی مثل ICAM-1 صورت می‌گیرد و اتصال لنفوسیت به مولکول‌های چسبان روی اندوتلیوم را ممکن می‌سازد. تصـور مـی‌شـود مکانیسم‌های مولکولی دخیـل در مراحـل پایـانی مهـاجرت از خـلال انـدوتلیوم، بـا واسـطه مولکول‌های چسبان اتصالات محکم JAM-1 (CD321) و PECAM-1 (CD31) باشند.

- لانه‌گزینی لنفوسیت‌ها توسط پذیرنده‌ها و پیام‌های ناشی از آنها جهت می‌یابد

مراحل عمومی خروج لنفوسیت‌ها از رگ شبیه نوتروفیل‌ها مـی‌باشـد. یکـی از جنبـه‌هـای متمایز کننده این در مرحله این است که زیرگروههای مختلف لنفوسیتی به صورت افتراقـی به بافت‌های متفاوتی مهاجرت می‌کنند. این فرآیندها، عبور و مرور[1] یا لانـه‌گزینـی[2] نامیـده می‌شوند. الگوهای متفاوت عبورو مرور زیر گروههای لنفوسیتی، به وسیله ترکیب منحصر بـه فردی از مولکول های چسبان و کموکاین ها می‌شود، پذیرنده‌هایی که گردش جمعیـت‌هـای مختلف لنفوسیت‌ها به برخی اعضای لنفاوی و بافت‌هـای التهـابی را جهـت‌دهـی مـی‌کننـد، پذیرنده‌های لانه‌گزینی[3] نامیده می‌شوند.

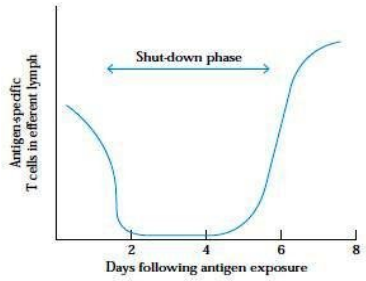
- بازگردش لنفوسیت‌های دست نخورده در اعضای لنفاوی ثانویه صورت می‌گیرد

لنفوسیت‌های دست نخورده تا زمانی که فعال نشده و به سلول‌های اجرایی تبدیل نشـوند، قادر به ایجاد پاسخ ایمنی نمی‌باشند. فعال‌سازی سلول‌هـای دسـت نخـورده در برخـی ریـز محیط‌های اعضای لنفاوی ثانویه صورت می‌گیرد. در این محل هـا، سـلول‌هـای دنـدریتیک، آنتی‌ژن را به دام انداخته و به این سلول‌ها عرضه می‌کنند که منجر به فعال‌سازی می‌گردد. سلول‌های دست نخورده ترجیحی برای ورود به نوع خاصی از بافت‌های لنفاوی ثانویه ندارند

1-trafficking
2- homing
3-homing receptors

www.bbooks.ir

و بدون تمایز قائل شدن بین این اعضا در سرتاسر بدن گردش می‌کنند. اتصال اولیه لنفوسیت‌های دست نخورده به HEVها معمولاً با واسطه اتصال L سلکتین به CD34, GlyCAM-1 روی HEV صورت می‌گیرد (شکل ۹-۱۳).



شکل ۹-۱۳: فعال شدن سلول T در ناحیه پاراکورتکس یک غده لنفی موجب از دست رفتن گردش لنفوسیتی می گردد.

به تازگی مشخص شده که (LFA-1, αLβ2)CDlla/CD18 و (VLA-4, α4β1) CD49d/CD18 قبل از فعال شدن در پدیدن غلتیدن دخالت دارند. کموکاین‌های CXCL12, CCL19, CCL21 از دو طریق سبب افزایش چسبندگی سلول‌های T دست نخورده به HEVها می‌شوند. یکی از طریق ایجاد شکل با میل پیوندی بالا و دیگری اتصال LFA-1 و VLA-4. علاوه بر این کموکاین‌ها، CXCL13 موجب فعال سازی اینتگرین‌های سطح سلول‌های B دست نخورده می‌شود. سایر کموکاین‌ها سبب زیر گروه‌هایی از لنفوسیت‌ها به نواحی خاص از گره‌های لنفی می‌گردند.

- لنفوسیت‌های اجرایی و خاطره‌ای الگوی عبور و مرور متفاوتی دارند

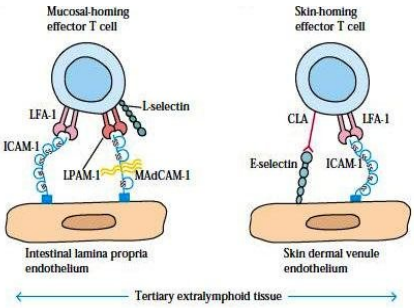
سلول‌های اجرایی به واسطه شناسایی اندوتلیوم عروقی ملتهب و مولکول های جاذب شیمیایی که در طول پاسخ التهابی تولید می‌شوند، به لانه گزینی در ناحیه عفونت تمایل

www.bbooks.ir

دارند. لنفوسیت‌های خاطره‌ای، به طور انتخابی تمایل به لانه گزینی در بافتی را دارند که برای اولین بار با آنتی‌ژن در آنجا برخورد کرده‌اند.

سلول‌های خاطره‌ای و اجرایی برخی مولکول‌های چسبان را به میزان فراوانی عرضه می‌کنند. مولکول‌هایی مثل LFA-1که بالیگاند خود در پوست و اپی‌تلیوم مخاطی و مکان‌های التهابی واکنش می‌دهند و این امکان را فراهم می‌آورد تا سلول‌های اجرایی و خاطره‌ای به این مکان‌ها وارد شوند. اندوتلیوم التهابی، شماری از مولکول‌های چسبان مثل P و E سلکتین، ICAM-1 و VCAM-1 را عرضه می‌کند که به پذیرنده‌های خود اتصال می‌یابند.

برخلاف لنفوسیت‌های دست نخورده، زیرگوهی از جمعیت‌های اجرایی و خاطره‌ای، رفتار لانه گزینی انتخابی را از خود نشان می‌دهند. به علاوه، برخی از بافت‌های یک‌سری از مولکول‌های چسبان دخیل درگزینش زیرگروه‌های اجرایی را عرضه می‌کنند. به عنوان مثال، زیرگروه سلول‌های اجرایی/خاطره‌ای که در مخاط لانه‌گزینی می‌کنند، مقادیر فراوانی از LPAM-1، LFA-1 را دارند که به ICAM, MadCAMهای مختلف روی عروق لامینا پروپریای روده اتصال می‌یابند (شکل ۱۰-۱۳).



شکل ۱۰-۱۳: مثال هایی از پذیرنده ها و آدرسین های عروقی دخیل در عبور و مرور انتخابی سلول های T دست نخورده و اجرایی.

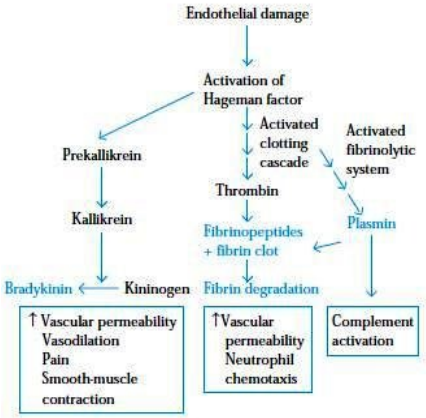
سلول‌های B ترشح کننده IgA، از طریق CCL25، CCL28 به بافت‌های گوارشی فراخوانده می‌شوند. زیرگروه دیگری از سلول‌های اجرایی/خاطره ای تمایل به لانه‌گزینی در

www.bbooks.ir

پوست دارند. این زیرگروه‌هـانیز مقـادیر انـدکی از L سـلکتین ومقـادیر بـالایی از آنتـی‌ژن لنفوسیتی پوست LFA-1 و CCLA را عرضه می‌کننـد، کـه بـه E سـلکتین و ICAMهـای عروق ناحیه درم پوست متصل مـی‌شـوند(شـکل ۱۰-۱۳). CCL27, CCL17, CCL1 بـه فراخوانی مجدد سلول‌های T کمک می‌کنند. هر چند که سلول‌هـای اجرایـی/خـاطره‌ای کـه مقادیر اندکی L سلکتین را عرضه می‌کنند، تمایل به لانه گزینی در اعضای لنفاوی ثانویـه از طریق HEV را ندارند ولی قادرند از طریق عروق لنفاوی آوران به غدد لنفاوی محیطی وارد شوند.

- آسیب‌بافتی و فعال شدن سیستم کینین

سیستم کینین یک آبشار آنزیمی می‌باشد و زمانی آغاز می‌گردد که فاکتور انعقادی با نام فاکتور هاگمن (فاکتور XIII) به دنبال آسیب بافتی فعـال شـود. فاکتورهـاگمن فعـال شـده موجب تبدیل پره‌کالیکرئین به کالیکرئین می‌شود که کاینینوژن را برای تولید برادی کینـین می‌شکند (شکل ۱۱-۱۳).



شکل ۱۱-۱۳: تخریب بافتی موجب تشکیل واسطه های آنزیمی پلاسما می شود. این واسطه ها عروق را تغییر داده و موجب علائم التهاب می شوند.

www.bbooks.ir

این پپتید قادر به افزایش نفوذپذیری عروق، اتساع عروق، القای درد و انقباض عضلات صاف می‌باشد. همچنین کالیکرئین می‌تواند مستقیماً سبب شکست اجزای کمپلمان(C5 به C5b, C5a) شود.

- سیستم انعقادی سبب تولید فیبرین می‌شود

آبشار آنزیمی دیگری که با تخریب عروق خونی به راه می‌افتد، مقادیر فراوانی ترومبین تولید می‌کند. همچنین با شروع یک پاسخ التهابی، (واکنش P سلکتین و PSGL-1) فاکتور بافتی از منوسیت‌های فعال شده رها می‌شود و سیستم انعقادی به راه می‌افتد. ترومبین بر روی فیبرنیوژن محلول در مایعات بافتی یا پلاسما اثر کرده و سبب تولید زنجیره‌هایی نامحلول فیبرین[1] و فیبرینوپپتیدها[2] می‌شود.

با اتصال متقاطع زنجیره‌های نامحلول فیبرین، لخته[3] تشکیل می‌شود که مانند حفاظی مانع از گسترش عفونت می‌گردد. پس از آسیب بافتی برای جلوگیری از خونریزی و انتشار پاتوژن مهاجم به گردش خون، سیستم انعقادی به سرعت به راه می‌افتد. فیبرینوپپتیدها به عنوان واسطه‌های التهابی عمل کرده و سبب افزایش نفوذپذیری عروق و کموتاکسی نوتروفیل‌ها می‌شوند. پلاکت‌های فعال شده، CD4OL را رها می‌کنند که منجر به افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی IL-b و IL-8 و افزایش عرضه مولکول‌های چسبان می‌شود. اینتگرین CD11b/CD18 به دو جزء سیستم انعقادی (فاکتور X و فیبرینوژن) متصل شده، فعالیت آنها افزایش یافته و بدین طریق انعقاد افزایش می‌یابد.

1-fibrin
2- fibrinopeptides
3- clot

www.bbooks.ir

- سیستم فیبرینولیتیک سبب تولید پلاسمین می‌شود

پاکسازی لخته‌های فیبرینی حاصل از آسیب بافتی، توسط سیستم فیبرینولیتیک انجام می‌شود. آنزیم تولیدی این مسیر، پلاسمین[1] بوده که شکل فعال شده پلاسمینوژن می‌باشد. به نظر می‌رسد فعال کننده پلاسمنیوژن نوع یورو کیناز (UPA) و پذیرنده آن (U-PAR) در اتصال لکوسیت به اندوتلیوم و ماتریکس خارج سلولی دخیل باشند. همچنین پلاسمین با فعال کردن مسیرهای کلاسیک کمپلمان در پاسخ‌های التهابی شرکت می‌کند.

- آنافیلاتوکسین‌ها توسط سیستم کمپلمان تولید می‌شوند.

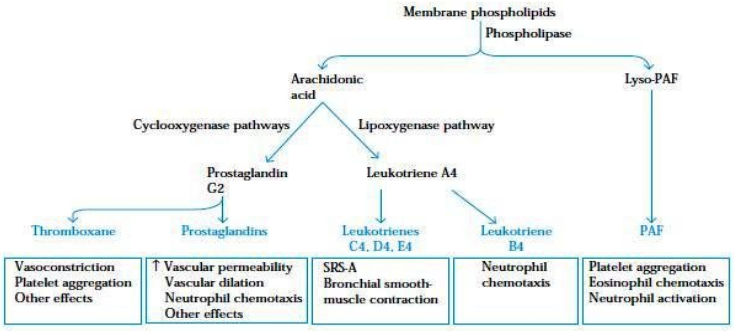
فعال شدن سیستم کمپلمان منجر به تولید اجزایی می‌گردد که واسطه‌های مهمی در التهاب می‌باشند. اتصال آنافیلاتوکسین‌ها (C3a, C5a) به پذیرنده روی غشای سلول‌هایی مثل ماست سل‌ها موجب رها سازی هیستامین و سایر واسطه های‌فعال می‌شوند. این واسطه‌ها، انقباض عضلات صاف و نفوذپذیری عروق را افزایش می‌دهند. C5a، C3a و C5b67 همراه با هم سبب القای چسبندگی منوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها به سلول‌های اندوتلیال عروقی، خروج از رگ و مهاجرت به سمت بافت‌هایی می‌شوند که کمپلمان در آنجا فعال شده است.

- برخی لیپیدهای به عنوان واسطه‌های التهابی عمل می‌کنند

در پی آشفتگی غشاء فسفولیپیدهای غشایی برخی سلول‌ها (ماکروفاژها، منوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و ماست‌سل‌ها) به اسید آراشیدونیک و Lyso-PAF تجزیه می‌شوند (شکل ۱۲-۱۳). این عامل در نهایت به فاکتور فعال کنندهٔ پلاکت (PAF) تبدیل می‌شود که سبب فعال شدن پلاکت و آثار التهابی بسیاری مثل کموتاکسی ائوزینوفیل‌ها و فعال شدن و دگرانوله شدن نوتروفیل‌ها و ائوزینونیل‌ها می‌گردد.

1-plasmin

www.bbooks.ir



شکل ۱۲-۱۳: تجزیه فسفولیپیدهای غشایی موجب تشکیل واسطه های التهابی نظیر ترومبوکسان ها و فاکتور فعال کننده پلاکتی می شود.

- متابولیسم اسیدآراشیدونیک در مسیر سیکلواکسیژناز، پروستاگلاندین‌ها[1] و ترومبوکسان‌ها[2] را تولید می‌کند

پروستاگلاندین‌های مختلفی توسط سلول‌های متفاوت تولید می‌شوند؛ منوسیت‌ها و ماکروفاژها مقادیر بالایی از PGF2,PGE2، نوتروفیل‌ها مقادیر متوسطی از PGE2 و ماست‌سل‌ها PGD2 تولید می‌کنند. آثار پروستاگلاندین‌ها، افزایش نفوذپذیری عروق، افزایش اتساع عروق و تحریک کموتاکسی نوتروفیل‌ها می‌باشند. ترومبوکسان ها سبب تجمع پلاکت‌ها و انقباض عروق خونی می‌شوند. اسیدآراشیدونیک همچنین از مسیرلیپواکسیژناز متابولیزه شده و سبب تولید چهارلکوترین[3] (LTE4, LTD4, LTC4, LTB4) می‌شود. در گذشته به مجموع لکوترین‌های C4، D4 و E4، **ماده با واکنش آهسته آنافیلاکسی[4] -SRS)**

1- prostaglandins
2- thromboxanes
3-leukotrienes
4-slow reacting substance of anaphylaxis

www.bbooks.ir

(A اتلاق می‌شد. LTB4 جاذب شیمیایی نوتروفیل‌ها می‌باشد. لکوترین‌ها توسط منوسیت‌ها، ماکروفاژها و ماست‌سل‌ها تولید می‌شوند.

- برخی سایتوکاین‌ها واسطه‌های التهاب می‌باشند

برخی از سایتوکاین‌ها مثل IL-12, TNF-α, IL-b, IL-1 در ایجاد پاسخ‌های التهابی حاد و مزمن دخالت دارند. برخی از آثار این سایتوکاین ها در جدول ۳-۱۳ فهرست شده است. علاوه بر این، IFN-γ نیز در پاسخ‌های التهابی مزمن شرکت دارد. IL-12 تمایز زیر مجموعه T_H1 پیش‌التهابی را تحریک می‌کند.

- فرآیند التهاب

التهاب یک پاسخ فیزیولوژیک به محرک‌های متنوعی مثل عفونت‌ها و آسیب‌های بافتی می‌باشد. به طور معمول، یک پاسخ التهابی حاد، یک مرحله سریع وشدید با دوره کوتاه می‌باشد. التهاب حاد معمولاً با یک واکنش سیستمیک تحت عنوان پاسخ فاز حاد همراه است که تغییر سریع در میزان چندین پروتئین پلاسمایی از مشخصات آن می‌باشد. در برخی بیماری‌ها تداوم فعالیت ایمنی می‌تواند منجر به التهاب مزمن شود که گاهی نتایج پاتولوژیک را به همراه دارد.

- نقش اولیه و مهم نوتروفیل‌ها

در مراحل اولیه پاسخ التهابی، اکثریت سلول‌های نفوذیافته به بافت، نوتروفیل‌ها می‌باشند. نفوذ نوتروفیل‌ها به بافت در ۶ ساعت اول پاسخ التهابی به حداکثر خود می‌رسد. به این منظور، تولید نوتروفیل‌ها در مغز استخوان افزایش می‌یابد. نوتروفیل‌ها مغز استخوان را ترک کرده و وارد گردش خون می‌شوند.در پاسخ به واسطه‌های التهابی، سلول‌های اندوتلیال

www.bbooks.ir

عروقی عرضه P و E سلکتین را افزایش می‌دهند. نوتروفیل‌های در گردش موسین‌هایی مانند PSGL-1 یا تتراساکارید های سیالیل لویسa وسیالیل لویس x را عرضه می‌کنند که به P و E سلکتین متصل می‌شوند.

با غلتیدن نوتروفیل‌ها روی اندوتلیوم عروق، کموکاین‌های مانند IL-8 روی نوتروفیل‌ها اثر کرده و با واسطه پروتئین G، پیام‌هایی را ایجاد می‌کنند که موجب تغییر ساختار فضایی اینتگرین‌ها و اتصال آنها به اندوتلیوم میشود و در نهایت نوتروفیل‌ها از میان اندوتلیوم مهاجرت می‌کنند (شکل ۵-۱۳).

در بافت‌ها، نوتروفیل‌های فعال شده که مقادیر بالایی پذیرنده کموکاین را عرضه کرده‌اند، در جهت افزایش شیب غلظت مواد جاذب شیمیایی مهاجرت می‌کنند. واسطه‌های التهابی که برای نوتروفیل‌ها کموتاکتیک می‌باشند، شامل چندین سایتوکاین، اجزای کمپلمان (C3a, C5a, C5b67)، فیبرینوپپتیدها، پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌ها و برخی مولکول های رها شده توسط میکروارگانیسم‌ها مانند پپتیدهای فرمیل متیونین می‌باشند. میزان پذیرنده‌های Fc و کمپلمان در نوتروفیل‌های فعال شده افزایش می‌یابد که این سلول‌ها را برای فاگوستیوز پاتوژن‌هایی که توسط اجزای کمپلمان یا آنتی‌بادی پوشیده شده‌اند، بسیار کارآمدتر می‌کند.

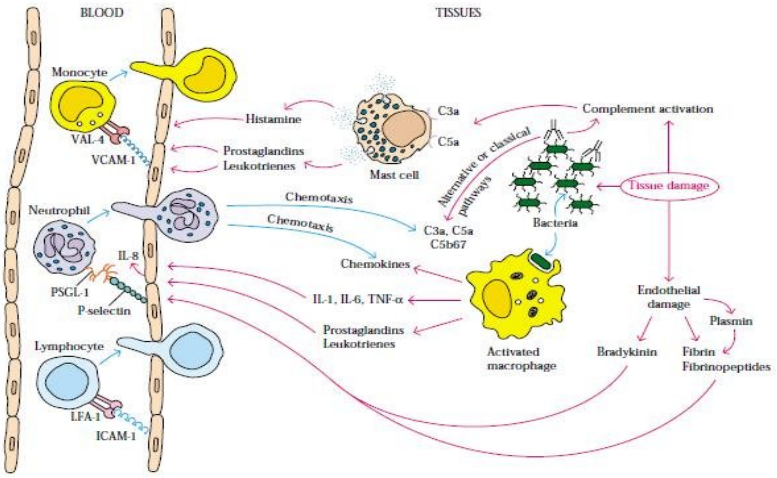
- پاسخ التهابی موضعی

نشانه‌های یک پاسخ التهابی حاد، برای اولین بار تقریباً ۲۰۰۰ سال پیش توصیف شد که شامل تورم، قرمزی، گرما، درد و فقدان عملکرد می‌باشد. دقایقی پس از آسیب، قطر رگ‌ها افزایش می‌یابد که سبب افزایش حجم خون وکاهش جریان خون در آن ناحیه می‌شود. افزایش حجم خون، بافت را گرم کرده و عامل قرمزی آن نیز می‌باشد. همچنین نفوذپذیری عروقی نیز افزایش می‌یابد که منجر به نشست مایع از عروق خونی به خصوص وریدچه‌های پس مویرگی می‌شود. در نتیجه، مایع در بافت تجمع می‌یابد (ادم[1]) و در برخی موارد، خروج

1- edema

www.bbooks.ir

لکوسیت‌ها از رگ در تورم و سرخی مشارکت دارد (شکل ۱۱-۱۳). چند ساعت پس از شروع تغییرات عروقی، نوتروفیل‌ها به سلول‌های اندوتلیال چسبیده و از جریان خون به سمت بافت‌ها مهاجرت می‌کنند (شکل ۱۳-۱۳).



شکل مروری ۱۳-۱۳: سلول ها و واسطه های دخیل در یک پاسخ التهابی موضعی و حاد.

این نوتروفیل‌ها، پاتوژن‌های مهاجم را بلعیده و واسطه‌های دخیل درپاسخ‌های التهابی را رها می‌کنند. در بین این واسطه‌ها، پروتئین های التهابی ماکروفاژ (MIP-1β, MIP-1α) و کموکاین‌ها که ماکروفاژها را به محل التهاب جذب می‌کنند، وجود دارند. ماکروفاژها حدوداً ۵ تا ۶ ساعت پس از شروع پاسخ التهابی به محل التهاب می‌رسند. این ماکروفاژها، فعال شده وقدرت فاگوستیوز بالایی دارند و مقادیر فراوانی از واسطه‌ها و سایتوکاین‌های دخیل در پاسخ‌های التهابی را رها می‌کنند.

ماکروفاژهای بافتی فعال، سایتوکاین‌های TNF-α, IC-6, IL-1را ترشح می‌کنند که عامل بسیاری از تغییرات موضعی و سیستمیک می‌باشند (جدول ۳-۱۳). هر سه سایتوکاین به صورت موضعی، انعقاد و افزایش نفوذپذیری عروق را تحریک می‌کنند. TNF-α, IL-1 افزایش عرضه مولکول های چسبان اندوتلیال عروق را القا می‌کنند. برای مثال TNF-α،

www.bbooks.ir

عرضه E سالکتین و IL-1 بیان VCAM-1, ICAM-1را تحریک می‌کنند. نوتروفیل‌ها، منوسیت‌ها و لنفوسیت‌های در حال گردش، این مولکول‌ها را روی دیواره عروق شناسایی کرده به آنها اتصال یافته و سپس از خلال دیواره عروق به سمت فضاهای بافتی مهاجرت می‌کنند.

پاسخ التهابی موضعی می‌تواند بدون درگیری کل سیستم ایمنی انجام گیرد. با این حال، در بیشتر موارد، سایتوکاین‌های رها شده در محل التهاب سبب تسهیل چسبندگی سلول‌های ایمنی به سلول‌های اندوتلیال و مهاجرت آنها از خلال دیواره عروق به فضاهای بافتی می‌شوند. بنابراین، لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، منوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها، بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها به جایگاه تخریب وارد می‌شوند و در آنجا به پاکسازی آنتی‌ژن و ترمیم بافت می‌پردازند.

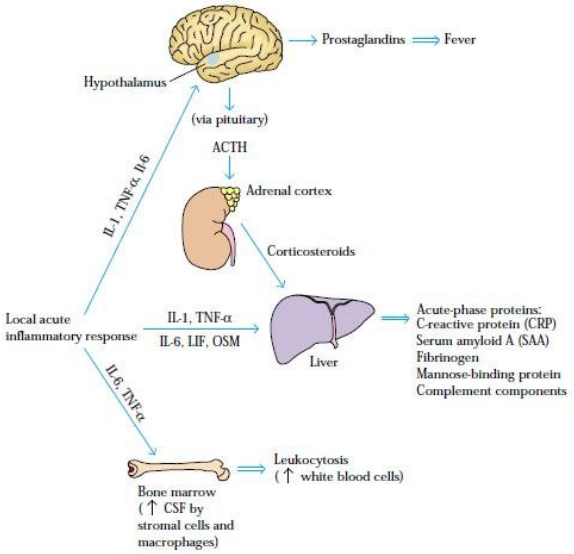
دوره و شدت پاسخ التهابی حاد موضعی به منظور جلوگیری از تخریب بافتی و تسهیل مکانیسم‌های ضروری در ترمیم بافتی، بایستی به دقت تنظیم شوند TGF-β در محدود سازی پاسخ التهابی نقش مهمی برعهده دارد و همچنین موجب افزایش تجمع و تکثیر فیبروبلاست‌ها و رسوب ماتریکس خارج سلولی می‌شود. مراحل چسبندگی لکوسیت‌ها یکی از مهمترین مراحل در پاسخ التهابی می‌باشد. نقص در چسبندگی مناسب لکوسیت‌ها می‌تواند منجر به بروز بیماری شود (تمرکز بالینی).

- پاسخ فاز حاد سیستمیک

پاسخ التهابی موضعی، با پاسخ سیستمیکی تحت عنوان **پاسخ فاز حاد**[1] همراه است (شکل ۱۴-۱۳).

1-acute phase response

www.bbooks.ir



شکل مروری ۱۴-۱۳: اندام ها و واسطه های دخیل در پاسخ فاز حاد سیستمیک.

این پاسخ با القای تب، افـزایش تولیـد هورمـون‌هـایی ماننـد ACTH و هیـدروکورتیزون، لکوسیتوز و تولید مقادیر بالایی **از پروتئین‌هـای فـاز حـاد**[1] **(APP)** توسـط کبـد مشـخص می‌شود. بالا رفتن دمای بدن مانع رشد شماری از پاتوژن‌ها شده و پاسخ ایمنی علیه پـاتوژن را افزایش می‌دهد.

پروتئین واکنشگر C (CRP) یکی از پروتئین‌های فازحاد می‌باشد که میزان سـرمی آن در طول پاسخ فاز حاد ۱۰۰۰ برابر افزایش می‌یابد. این پروتئین از ۵ زنجیره پلی پپتیدی یکسان که به شکل غیر کووالان به یکدیگر اتصال یافته‌انـد، تشـکیل شـده اسـت. CRP بـه طیـف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها اتصال یافته و موجب فعال شدن کمپلمان می‌شود، این پـروتئین سبب رسوب اپسونین C3b روی سطح میکروارگانیسم ها می‌گردد. پـس از آن، سـلول‌هـای

1-ocute phase proteins

www.bbooks.ir

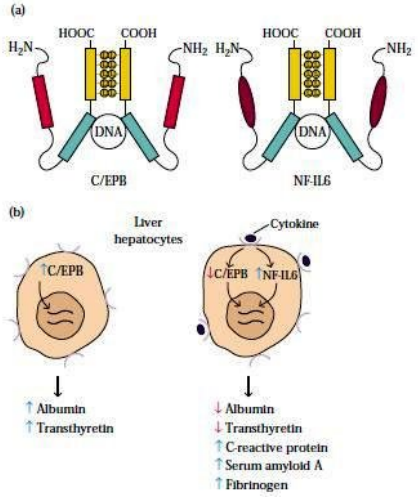
بیگانه‌خوار حاوی پذیرنده C3b می‌توانند به سادگی میکروارگانیسم‌های پوشیده شده را فاگوستیوز کنند.

بسیاری از آثار پاسخ فاز حاد در نیتجه همکاری IFN-γ, TNF-α, IL-1 می‌باشد (شکل ۱۴-۱۳). هر کدام از این سایتوکاین‌ها روی هیپوتالاموس اثر کرده و باعث القای تب می‌شوند. در خلال ۱۲ تا ۱۴ ساعت پس از شروع پاسخ التهابی فاز حاد،افزایش سطح IFN-γ, TNF-α, IL-1 سبب تحریک تولید APPها توسط سلول‌های کبدی می‌شود. TNF-α همچنین روی سلول‌های اندوتلیال عروقی و ماکروفاژها اثر کرده و ترشح عوامل محرک کلونی (M-CSF، G-CSF و GM-CSF) را القا می‌کند. این CSFها خونسازی را تحریک کرده وسبب افزایش موقتی تعداد سلول‌های سفید خون می‌گردند.

حداقل پنج سایتوکاین TNF-α، IL-1، IL-6، LIF و OSM توانایی هم پوشانی برای تحریک تولید APPها توسط کبد را دارند؛ این امر یه دلیل القای عامل نسخه‌برداری مشترکی با نام NF-IL6 می‌باشد که پس از واکنش هر کدام از این سایتوکاین‌ها با پذیرنده خود به وجود می‌آید. توالی اسید آمینه NF-IL6 کلون شده با توالی C/EBP (یک عامل نسخه‌برداری اختصاصی کبد) همسانی زیادی دارد (شکل ۱۵-۱۳).

C/EBPکه تولید آلبومین وترانس تیرتین را تحریک می کند، پیوسته توسط هپاتوسیت‌ها تولیدمی‌شود. در زمان ایجاد پاسخ التهابی و واکنش سایتوکاین‌هایی که روی هپاتوسیت‌های کبدی پذیرنده دارند، عرضه NF-IL6 افزایش و C/EBPکاهش می‌یابد (شکل ۱۵-۱۳). رابطه معکوس بین این دو عامل نسخه‌برداری، مسئول کاهش میزان پروتئین‌هایی مثل آلبومین و ترانس تیرتین و افزایش APPها در طول پاسخ‌های التهابی می‌باشد.

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۱۳: مقایسه ساختار و عملکرد C/EBP و NF-IL-6. (a) این عوامل نسخه برداری پروتئین های دایمر می باشند. (b) C/EBP از لحاظ ساختاری در هپاتوسیت های کبد بیان شده و نسخه برداری ژن های آلبومین و ترانس تیرتین را افزایش می دهد.

تمرکز بالینی

نقص چسبندگی لکوسیتی (LAD)در انسان و گاو

سیستم ایمنی از التهاب برای تجمع ترکیبات یک پاسخ کارآمد و تمرکز این منابع در محل عفونت استفاده می‌کند. التهاب، پیچیده بوده و شامل افزایش نفوذپذیری عروق، خروج پروتئین‌های پلاسما و تجمع سلول‌های التهابی می‌باشد. مواد جاذب شیمیایی، عناصر کلیدی در فراخوانی لکوسیت‌ها به محل التهاب می‌باشند که شامل IL-8، MCP-1، MIP-1 و C5a می‌باشند. مواد جاذب شیمیایی، پیام‌هایی را به لکوسیت‌ها مخابره می‌کنند که باعث می‌شود آنها محکم‌تر به سطح عروق اتصال یابند و با عبور از بین سلول‌های اندوتلیال به سمت بافت‌ها مهاجرت کنند. حرکت آنها به سمت جایگاههای التهاب توسط شیب غلظت مواد جاذب شیمیایی هدایت می‌شود. بازیگران اصلی در وقایع چسبندگی و خروج از رگ، مولکول‌های اینتگرینی هترو دایمر سطح لکوسیت‌های مهاجر می‌باشند. (LFA-1)

www.bbooks.ir

CD11a/CD18، CD11b/CD18 (Mac-1 یـا CR3) و CD11c/CD18(P150,95 یـا CR4) نمونه‌هایی از آنها می‌باشند. در ۱۹۷۹، مقاله‌ای تحت عنوان « تـأخیر در جـدا شـدن بند ناف، عفونت منتشر و نقص در حرکت نوتروفیل» در یک مجله انگلیسی به نـام لنسـت چاپ شد. این اولین سری گزارشاتی بود که هر ساله برای توصیف بیمـاران مبـتلا بـه یـک بیماری اتوزومی مغلوب نادر چاپ می‌شوند. این بیماری ابتدا در عفونت بند ناف دیده شـد. اگر چه استعداد این افراد برای ابتلا به عفونت‌های ویروسی مانند افراد طبیعی می‌باشد، ولی افراد مبتلا اغلب از عفونت‌های راجعه و مزمن باکتریایی رنج می‌برند. مطالعات ایمنی دقیـق روی این بیماران نشان داد که سطح Igهای آنها درحد طبیعی می‌باشد و سـلول‌هـای B،Tو NKآنها عملکرد طبیعی دارند. با این حال، آزمایش مهاجرت لکوسیتی در پاسخ به صـدمه بافتی، علت بیماری این افراد را آشکار کرد.

یکی از روش‌های ارزیابی میزان مهاجرت لکوسیتی، خراش ملایم پوسـت بـازو مـی‌باشـد. جمعیت سلولی که به سوی ناحیه خراشیده حرکت می‌کنند، بوسیله بـدام انـدازی برخـی از آنها روی لام‌های شیشه‌ای، نمونه‌گیری می‌شوند. معمولاً هر لام دو ساعت در محل گذاشته می‌شود و سپس انکوبه می‌گردد. این فرآیند ۴ مرتبه طی ۸ ساعت تکرار می‌شود. لام‌هـا در زیر میکروسکوپ از نظر چسبندگی لکوسیت‌ها بررسی می شوند. در اشخاص طبیعی، پاسـخ سیستم ایمنی با حضور لکوسیت‌ها روی اسلاید مشخص می‌شود ولی در بیماران مورد نظـر، لام‌ها فاقد لکوسیت می‌باشند. بررسی لکوسیت‌های این بیماران، فقدان CD18 را آشکار کرد که یک ترکیـب ضـروری در تعـدادی از اینتگـرین‌هـا مـی‌باشـد. ایـن بیمـاران از نـاتوانی لکوسیت‌های خود در مهاجرت به جایگاه التهاب بواسطه چسبندگی رنج می‌برند. بـه همـین دلیل نام این سندرم را نقص چسبندگی لکوسیتی (LAD)گذاشته‌اند.

این بیماری تنها منحصر به انسان نبوده و یک نمونه بسیار مشـابه بـا نـام بیمـاری نقـص چسبندگی لکوسیتی گاوی (BLAD) نیز شناخته شده است که در احشام رخ می‌دهد. عامل LAD در این حیوانات مشابه علت LADدر انسان‌ها مـی‌باشـد. دلیـل تفـاوت شـیوع ایـن

www.bbooks.ir

بیماری در برخی گله‌ها چه می‌تواندباشد؟ شیوع این بیماری درگاوها از نظر اقتصادی بسیار با اهمیت می‌باشد. این امر به دلیل درجه بالای درونزادی موجود دربین گله‌ها می‌باشد. در اوایل سال ۱۹۹۰ در برخی کشورها شیوع BLAD ۱۰٪ در گله‌های شیرده بود.

با کلون سازی ژن CD18 گاوی امکان طراحی روش‌های PCR برای تشخیص شکل ناهنجار این ژن به دست آمد. امروزه غربالگری آلل BLAD امکان پذیر می‌باشد. در نتیجه گاوهای نر حامل ژن BLAD شناسایی شده و از جمعیت پرواری حذف می‌شوند. این کار منجر به کاهش فوق‌العاده موارد جدید BLAD و کاهش شیوع عمومی آلل BLADدر جمعیت گله ها می‌گردد.

- التهاب مزمن در نتیجه پایداری آنتی‌ژن شکل می‌گیرد.

برخی از میکروارگانیسم‌ها قادرند از دست پاکسازی سیستم ایمنی فرار کنند. چنین ارگانیسم‌هایی اغلب پاسخ‌های التهابی مزمن را القا می‌کنند که سبب آسیب بافتی جدی می‌شوند. التهاب مزمن همچنین در برخی از بیماری‌های خود ایمنی نیز دیده می‌شود. در آخر این که التهاب مزمن در تخریب بافتی حاصل از انواع سرطان‌ها نیز دخیل می‌باشند.

تجمع و فعال شدن ماکروفاژها از مشخصات التهاب مزمن می‌باشد. سایتوکاین‌های رها شده از ماکروفاژهایی که به طور مزمن فعال شده‌اند سبب تحریک تکثیر فیبروبلاست‌ها و تولید کلاژن می‌شود. یک نوع اسکار بافتی درمحل التهاب مزمن طی فرآیندی با نام فیبروز[1] ایجاد می‌شود. همچنین التهاب مزمن می‌تواندمنجر به تشکیل گرانولوما[2] شود. مرکز گرانولوما معمولاً حاوی سلول‌های غول آسای چند هسته‌ای می‌باشد که از الحاق ماکروفاژهای فعال شده به وجود آمده است. این سلول‌های غول‌آسا معمولاً با ماکروفاژهای

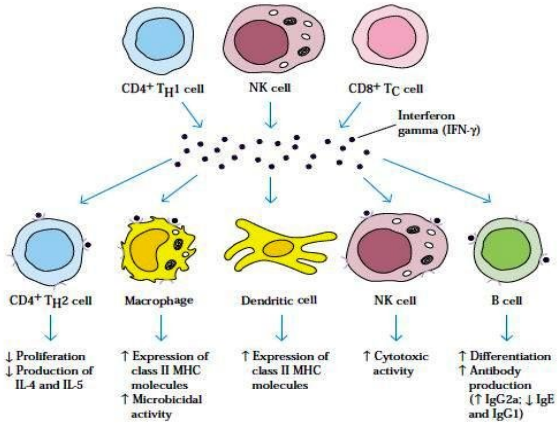
1- fibrosis
2-granuloma

www.bbooks.ir

بزرگ تغییرشکل یافته که شبیه سلول های اپی تلیال هستند (سلول‌های اپی تلوئید) احاطه شده‌اند.

- نقش TNF-α و IFN-γ در التهاب مزمن

TNF-α و IFN-γ نقش اساسی در تولید پاسخ‌های التهابی دارند. IFN-γ توسط سلول‌های T_H1، NK و Tc و TNF-α توسط ماکروفاژهای فعال ترشح می‌شوند. IFN-α و IFN-β توسط سلول‌های آلوده به ویروس ترشح شده و اثر محافظتی ضد ویروس بر روی سلول‌های مجاور دارند. نوع IFN تولیدی دقیقاً وابسته به نوع سلول آلوده می‌باشد. IFN-α توسط لکوسیت‌ها و IFN-β به مقدار زیاد توسط فیبروبلاست‌ها ساخته می‌شود. IFN-γ منحصراً توسط سلول‌های T و NK تولید می‌شود و عملکردهای چندگانه‌ای دارد (شکل ۱۶-۳).

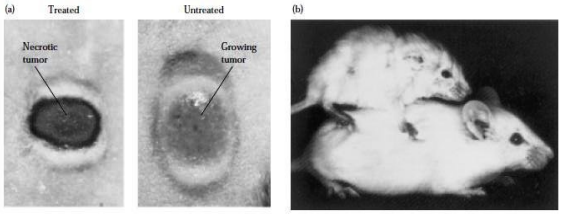


شکل ۱۶-۱۳: خلاصه فعالیت چندگانه IFN-γ.

یکی از قوی‌ترین اثرات IFN-γ توانایی فعال‌سازی ماکروفاژها می‌باشد. در ماکروفاژهای فعال، عرضه مولکول‌های MCH-II، تولید سایتوکاین‌ها و فعالیت میکرب‌کشی افزایش یافته است که در نتیجه آنها را در عرضه آنتی‌ژن و کشتار پاتوژن‌های داخل سلولی کارآمدتر می‌سازد. یکی از سایتوکاین‌های ترشح شده توسط ماکروفاژها، TNF-α می‌باشد این

www.bbooks.ir

سایتوکاین مستقیماً برای برخی از سلول‌های توموری سایتوتوکسیک می‌باشد ولی بر روی سلول‌های طبیعی اثر ندارند (شکل ۱۷-۱۳).



شکل ۱۷-۱۳: فعالیت های زیستی TNF-α. یک تومور سرطانی در یک موش که اندوتوکسین به آن تزریق شده است، نکروز هموراژیک را نشان می دهد. اندوتوکسین موجب تولید TNF-α می شود که تومور را تخریب می کند. (b) موش ترانس ژنیک (بالا) حامل ترانس ژن TNF-α به شدت تحلیل یافته است.

با این وجود، روش‌های ایمونوتراپی استفاده از TNF-α در درمان سرطان نا امید کننده بوده است. همچنین چندین مشاهده نشان داده است که TNF-α سبب تحلیل بافتی می‌شود. برای مثال، موش‌های با ژن انتقالی TNF-α شدیداً تحلیل می‌روند (شکل ۱۷-۱۳). فعال شدن ماکروفاژها توسط IFN-γ سبب افزایش نسخه‌برداری از ژن‌های TNF-α و افزایش پایداری mRNA آن می‌شود. هر دوی این تأثیرات سبب افزایش تولید TNF-α می‌شوند. TNF-α به صورت هم‌افزایی با IFN-γ در آغاز پاسخ التهابی مزمن نقش دارند. هر دو سایتوکاین با یکدیگر سبب افزایش زیاد ICAM-1، E سلکتین و MHC-I می‌شوند. افزایش مولکول‌های چسبان بین سلولی، سبب تسهیل فراخوانی سلول‌های بسیاری در پاسخ التهابی مزمن می‌گردد.

- ظهور ساختارهای شبه HEV در بیماری‌های التهابی مزمن

مطالعات اخیر نشان داده است که سلول‌های اندوتلیال فربه‌ای (همانند HEV) در شبکه عروقی ساختارهای لنفاوی در عفونت‌های مزمن ظاهر می‌شوند. این نواحی شبه HEV که

www.bbooks.ir

جایگاه خروج از رگ لنفوسیت‌ها در میان بافت‌های ملتهب می‌باشند، GlyCAM-1، MadCAM-1 و CD34 که اغلب روی HEVهای طبیعی حضور دارند را بیان می‌کنند.

چندین سایتوکاین التهابی خصوصاً IFN-σ و TNF-α ممکن است در القای نواحی شبه HEV در شبکه عروقی نقش داشته باشند. این نواحی در تعدادی از بیماری‌های التهابی مزمن مانند آرتریتروماتوئید، بیماری کرون، کولیت اولسراتیو، بیماری گریوز، تیروئیدیت هاشیموتو و دیابت ملیتوس دیده شده‌اند. (جدول ۴-۱۳).

TABLE 13-4 Chronic inflammatory diseases associated with HEV-like vasculature

Disease	Affected organ	Plump endothelium	Mucin-like CAMs on endothelium*
Crohn's disease	Gut	+	+
Diabetes mellitus	Pancreas	+	+
Graves' disease	Thyroid	+	+
Hashimoto's thyroiditis	Thyroid	+	+
Rheumatoid arthritis	Synovium	+	+
Ulcerative colitis	Gut	+	+

*Includes GlyCAM-1, MAdCAM-1, and CD34.

SOURCE: Adapted from J. P. Girard and T. A. Springer, 1995, *Immunology. Today* **16**:449.

- عوامل ضد التهاب

اگر چه تکوین یک پاسخ التهابی مؤثر نقش مهمی در دفاع بدن بازی می‌کند، ولی این پاسخ برخی موارد می‌تواند مضر باشد. آلرژی‌ها، بیماری‌های خود ایمن، عفونت‌های میکربی، پیوند اعضا و سوختگی‌ها می‌توانند پاسخ التهابی مزمن ایجاد کنند. روش‌های درمانی مختلفی برای کاهش دوره طولانی پاسخ‌های التهابی و عوارض ناشی از آنها در دسترس است.

- آنتی بادی درمانی و کاهش خروج از رگ لکوسیت‌ها

به دلیل این که پدیده خروج از رگ، یکی از بخش‌های مهم پاسخ التهابی می‌باشد، ممانعت از این فرآیند یکی از روش‌های درمانی کاهش التهاب می‌باشد. از نظر

www.bbooks.ir

تئوری،خروج ازرگ لکوسیت می‌تواند کاهش یابد. برای مثال، در مدل‌های حیوانی، آنتی‌بادی ضد LFA-1 برای کاهش حضور نوتروفیل‌ها در بافت‌های ملتهب استفاده شده است. همچنین آنتی‌بادی ضد ICAM-1 با برخی موفقیت‌ها در مهار نکروز بافت ها در سوختگی‌ها و کاهش احتمال رد پیوند کلیه در مدل‌های حیوانی به کار رفته است. نتایج استفاده از این آنتی‌بادی‌ها، محققان را برای درمان بیماران پیوند کلیه تشویق نمود.

آزمایشات بالینی، بهبودی واضحی را در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس عود شونده، بیماری کرون و آرتریت روماتوئید در صورت درمان با آنتی‌بادی‌هایی که اینتگرین $\alpha 4$ (زیر واحد VLA-4) را مهار می‌کنند. نشان داده است وپسوریازیس شدید می‌تواند در صورت درمان با آنتی‌بادی‌های مهار کنندهٔ اینتگرین αL (یکی از زیر واحدهای LFA-1) به فرم متوسط تبدیل شود.

مهار VLA-4 توسط برخی از این آنتی‌بادی‌ها، منجر به تشکیل پاسخ T_H1 می‌شود و نتیجه مناسبی در بیماری هایی که قبلاً پاسخ غالب از نوع سلول‌های T_H1 بوده است را نمی‌دهد. در آزمایشات دیگر، سه بیمار دریافت کنندهٔ آنتی‌بادی ضد $\alpha 4$ در MS یا بیماری کرون مبتلا به لکوآنسفالوپاتی ویروسی شدند؛ احتمالاً به دلیل کاهش مهاجرت سلول‌های ایمنی به جایگاه سلول‌های عصبی، ویروس منتشر شده است. این مولکول‌های چسبان قبل ازاین که مهار شوند، استفاده‌های بی‌شماری در بدن داشته و آثار جانبی مربوط به تداخل عملکرد این مولکول‌های چسبان مستلزم شناخت دقیق‌تری می‌باشد.

- کورتیکواستروئیدها داروهای ضد التهاب قدرتمندی می‌باشند

کورتیکواستروئیدها شامل پردنیزون، پردنیزولون و میتل پردنیزولون می‌باشند. این عوامل ضد التهابی قدرتمند، آثار متنوعی در کاهش تعداد و فعالیت سلول‌های سیستم ایمنی نشان می‌دهند. درمان کورتیکواستروئیدی سبب کاهش تعداد لنفوسیت‌های درگردش نمی‌شود. این عمل در نتیجه لیزالقایی لنفوسیت‌ها با واسطه استروئیدها (لنفولیز) یا تغییر الگوی گردش

www.bbooks.ir

لنفوسیت‌ها انجام می‌پذیرد. در جوندگان، کورتیکواستروئیدها سبب القای مرگ برنامه‌ریزی شده در تیموسیت‌های نابالغ می‌شوند، در حالی که تیموسیت‌های بالغ به این فعالیت مقاوم می‌باشند. مراحل دخیل در القای آپوپتوز توسط کورتکیواستروئیدها هنوز شناسایی نشده است. در انسان، خوکچه هندی و میمون، کورتیکواستروئیدها موجب آپوپتوز نمی‌شوند بلکه الگوی گردش لنفوسیت را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

شبیه سایر هورمون‌های استروئیدی، کورتیکواستروئیدها نیز آبگریز بوده و می‌توانند از خلال غشای پلاسمایی عبور کنند و به پذیرنده خود در سیتوزول اتصال یابند. سپس مجموعه هورمون- پذیرنده به داخل هسته حمل شده و در آنجا به توالی‌های تنظیمی DNA متصل گردیده و سبب کاهش یا افزایش نسخه‌برداری می‌شود. مشخص شده که کورتیکواستروئیدها سبب افزایش نسخه‌برداری از مهار کننده NF-kB (IkB) می‌شوند.

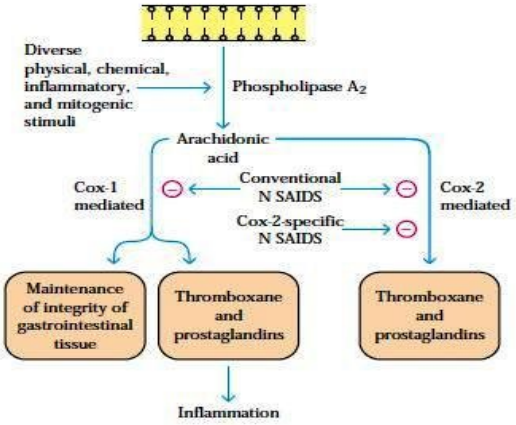
کورتیکواستروئیدها همچنین فعالیت بیگانه‌خواری و کشتار ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها را کاهش می‌دهند. به علاوه، آنها کموتاکسی را کاهش می‌دهند، به طوری که سلول‌های التهابی کمتری به جایگاه فعالیت سلول‌های T_H جذب می‌شوند. در حضور کورتیکواستروئیدها عرضه MHC-II و تولید IL-1 توسط ماکروفاژها به شدت کاهش می‌یابد.

- NSAID ها ضد درد و ضد التهاب می‌باشند

از زمان بقراط، عصاره پوست درخت بید برای تسکین درد استفاده می‌شده که ترکیب فعال آن (سالیسیلات) در آسپرین نیز یافت می‌شود که تنها یکی از چندین داروی ضد التهاب غیراستروئیدی (NSAID) می‌باشد. NSAIDها یکی از شایع‌ترین داروهای تجویزی برای درمان درد و التهاب می‌باشند. مشخص شده است که مکانیسم‌های اصلی این داروها، مهار مسیر سیکلواکسیژناز می‌باشد. کاهش تولید پروستاگلاندین‌ها، افزایش نفوذپذیری عروقی و کموتاکسی نوتروفیل‌ها در پاسخ التهابی را محدود می‌سازد. همان‌طور که شکل

www.bbooks.ir

۱۸-۱۳ نشان می‌دهد، مسیر سیلکواکسیژناز با واسطه دو آنزیم سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ (Cox-1, Cox2) میانجی‌گری می‌شود.



شکل ۱۸-۱۳: مهار سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ توسط NSAID ها.

هر چند که NSAID هایی مانند آسپیرین، تیلنول، ایبوپروفن، ناپروکسین و غیره به طور معمول برای درمان امراضی همچون آرتریت، صدمات بافتی و کمردرد تجویز می‌شوند، ولی آثار جانبی آنها، استفاده از آنها را محدود می‌کند. آثار جانبی آنها شامل تهوع، دردشکم و در موارد جدی خونریزی، سوراخ شدن معده یا لوله‌های گوارشی فوقانی می‌باشد. تحقیقات در مورد مکانیسم NSAIDها، مزایا و معایب بسیاری از آنها را روشن ساخته است. اگرچه اغلب NSAIDها، هر دونوع Cox-1 و Cox-2 را مهار می‌کنند ولی مهار Cox-2 مسئول آثار ضد التهابی آنها می‌باشد. این تشخیص منجر به طراحی و تولید نسل جدیدی از NSAIDها شد که به طور اختصاصی Cox-2 را مهار کرده و اثر اندکی روی فعالیت Cox-1 دارند. عملکرد این داروها در شکل ۱۸-۱۳ نشان داده شده است.

هر چند که داروهای جدید به منظور استفاده برای بیمارانی در معرض خطر آثار جانبی معدی- روده‌ای طراحی شده است ولی شیوع استفاده از آنها بسیار بالاست. متعاقباً اطلاعات

www.bbooks.ir

بالینی به دست آمده از بیمارانی که بازدارنده‌های جدید اختصاصی Cox-2 را مصرف کرده بودند، آثار جانبی قلبی-عروقی مثل حملات قلبی یا سکته را نشان داد. Vioxx که به منظور استفاده افراد مستعد به آثار جانبی معدی – روده‌ای طراحی شده بود در سال ۲۰۰۴ توسط شرکت سازنده به دلیل ارتباط آن با حوادث قلبی – عروقی، به صورت داوطلبانه از بازار جمع‌آوری شد. اخیراً بازدارنده‌های اختصاصی Cox-2 تنها برای استفاده در خط دوم یا سوم درمان توصیه می‌شوند.

- خلاصه

- گردش پیوسته لنفوسیت‌ها بین خون و لنف احتمال مواجهه تعداد اندک لنفوسیت‌های اختصاصی آنتی‌ژن را با آنتی‌ژن افزایش می‌دهد.
- مهاجرت لکوسیت‌ها به بافت‌های ملتهب یا اندام‌های لنفاوی، نیازمند واکنش بین مولکول‌های چسبان(CAMها) روی اندوتلیال عروقی و سلول‌های در گردش می‌باشد.
- اغلب CAM ها در یکی از چهار خانواده سلکتین‌ها، شبه موسین‌ها، اینتگرین‌ها یا خانواده بزرگ Ig طبقه‌بندی می‌شوند. سلکتین‌ها با CAM های شبه موسین واکنش می‌دهند و اعضای هر دو خانواده روی لکوسیت‌ها و اندوتلیوم عروقی عرضه می‌شوند. اینتگرین‌های سطح لکوسیت‌ها با CAMهای خانواده بزرگ Ig روی سلول‌های اندوتلیال واکنش می‌دهند.
- خروج نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها از رگ طی چهارمرحله غلتیدن، فعال شدن، توقف و اتصال و مهاجرت از خلال اندوتلیال صورت می‌پذیرد. نوتروفیل‌ها معمولاً اولین سلول‌هایی هستند که از گردش خون به سمت جایگاه التهاب حرکت می‌کنند.
- برخلاف نوتروفیل‌ها، جمعیت‌های متنوعی از لنفوسیت‌ها به طور تمایزی به بافت‌های مختلف می‌روند. پذیرنده‌های لانه‌گزینی روی لنفوسیت‌هابا مولکول‌های چسبان ویژه

www.bbooks.ir

بافت که آدرسین‌های عروقی نامیده می‌شوند و روی HEVهای اعضای لنفاوی و اندوتلیوم بافت‌های ثالث فوق لنفاوی قرار دارند، اتصال می‌یابند.

- لنفوسیت‌های دست نخورده در اعضای لنفاوی ثانویه از طریق خروج از میان HEV ها لانه‌گزینی می‌کنند، در حالی که لنفوسیت‌های اجرایی به طور انتخابی در اندوتلیوم عروقی ملتهب لانه‌گزینی می‌کنند.
- التهاب یک پاسخ فیزیولوژیک می‌باشد که با تحریکات مختلفی مانند صدمات بافتی و عفونت ایجاد می‌شود. پاسخ التهابی حاد به دو شکل موضعی وسیستمیک وجود دارد. پاسخ موضعی زمانی آغاز می‌شود که بافت و اندوتلیوم، تخریب شده و تشکیل واسطه‌های آنزیمی پلاسما را تحریک می‌کنند و این امر سبب وازودیلاتاسیون و افزایش نفوذپذیری عروق می‌شود.
- چندین نوع واسطه در پاسخ التهابی نقش دارند. کموکاین‌ها، جاذبین شیمیایی و مولکول‌های فعال کننده لکوسیت‌ها در طی پدیده خروج از رگ دخیل می‌باشند. واسطه‌های آنزیمی پلاسمایی سبب ایجاد برادی کینین و فیبرینوپپتیدهایی می‌شوند که نفوذپذیری عروق را افزایش می‌دهند. پلاسمین، آنزیم پروتئولیتیک می‌باشد که لخته فیبرینی را به محصولات کموتاکتیک تجزیه کرده و کمپلمان را فعال می‌نماید و اجزای مختلف کمپلمان به عنوان آنافیلاتوکسین، اپسونین و جاذب شیمیایی برای نوتروفیل‌ها و منوسیت‌ها عمل می‌کنند. واسطه‌های لیپیدی التهاب شامل ترومبوکسان‌ها، پروستاگلاندین‌ها، لکوترین‌ها و PAF می‌باشند. سه سایتوکاین Il-1، IL-6 و TNF-α بسیاری از جنبه‌های پاسخ التهابی حاد سیستمیک و موضعی را میانجی‌گری می‌کنند.
- فعال شدن ماکروفاژهای بافتی و دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها منجر به رهاسازی واسطه‌های التهابی بی‌شماری می‌شود. برخی از آنها پاسخ فازحاد را القا می‌کنند که شامل ایجاد تب، لکوسیتوز و تولید کورتیکواستروئیدها و پروتئین‌های فاز حاد می‌شوند.

www.bbooks.ir

- پاسخ التهابی مزمن ممکن است باآلرژی‌ها، بیماری‌های خود ایمن، عفونت‌های میکربی، پیوند اعضا و سوختگی‌ها همراه باشد. از درمان‌های دارویی مانند کورتیکواستروئیدها و داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAID) به طور شایع برای تسکین درد و التهاب استفاده می‌شود.

سئوالات درسی

۱- کدام یک از جملات زیر درست و کدام یک نادرست می‌باشند. اگر شما فکر می‌کنید که جمله‌ای نادرست است، دلیل خود را بیان کنید.

الف) کموکاین‌ها تنها برای لنفوسیت‌ها جاذب شیمیایی می‌باشند.

ب) اینتگرین‌های حاوی β2، روی لکوسیت‌ها و سلول‌های اندوتلیال عرضه می‌شوند.

پ) در پدیده خروج لکوسیت‌ها از رگ، واکنش‌های متعددی بین مولکول‌های چسبان دخیل هستند.

ت) اغلب اعضای لنفاوی ثانویه حاوی HEV می‌باشند.

ث) CAMهای شبه موسین با سلکتین ها واکنش می‌دهند.

ج) پاسخ التهابی حاد تنها یک تأثیر موضعی روی ناحیه‌ای از بافت آسیب دیده یا عفونی دارد.

چ) Mad CAM-1 یک مولکول چسبان اندوتلیالی می‌باشد که به L سلکتین و چندین نوع اینتگرین اتصال می‌یابد:

۲-واسطه‌های التهابی مختلف، عرضه ICAM ها را روی طیف وسیعی از بافت‌ها تحریک می‌کنند. این تحریک چه تأثیری درتمرکز سلول‌های ایمنی در محل می‌تواند داشته باشد؟

۳- پدیده خروج نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها از رگ توسط مکانیسم‌های مشابهی انجام می‌گیرد. هر چند که برخی از تفاوت‌ها، متمایز کننده این دو فرآیند می‌باشند.

www.bbooks.ir

الف) چهار مرحله اصلی خروج از رگ را نام ببرید.

ب)در کدام مرحله احتمال خروج نوتروفیل از رگ بیشتر می‌باشد؟ چرا؟

ت) زیر جمعیت‌های مختلف لنفوسیتی به طور ترجیحی به بافت‌های متفاوتی مهاجرت می‌کنند، فرآیندی که لانه‌گزینی نامیده می‌شود. نقش سه نوع از مولکول‌های دخیل را توضیح دهید.

۴- سه سایتوکاین ترشح شده از ماکروفاژهای فعال که نقش اساسی در آثار موضعی و سیستمیک پاسخ التهابی حاد دارند را نام ببرید.

۵- پاسخ التهابی کارآمد، نیازمند تمایز و تکثیر لکوسیت‌های غیرلنفاوی می‌باشد. توضیح دهید که چه طور خونسازی در مغز استخوان بوسیله صدمه بافتی یا عفونت موضعی القا می‌شود؟

۶- نشان دهید که کدامیک از مولکول های زیر در مراحل اول، دوم و سوم خروج نوتروفیل ازرگ دخالت دارند. از N برای مولکول هایی که دخیل نیستند استفاده کنید.

الف) کموکاین و L سلکتین

ب) E سلکتین و CAMهای شبه موسین

پ) IL-8 و E سلکتین

ت) اینتگرین و CAMهای خانواده بزرگ Ig

ث) ICAM و کموکاین

ج) کموکاین و پذیرنده‌های مرتبط با پروتئین G

چ) ICAM و اینتگرین

۷-آثار مهم IFN-γ و TNF-α را در طول پاسخ التهابی مزمن توضیح دهید.

۸-پنج سایتوکاین IL-1، IL-6، TNF-α، LIF، OSM تولید CRP و سایر APPها را توسط هپاتوسیت‌ها موجب می‌شوند. به طور مختصر توضیح دهید که چه طوراین سایتوکاین‌ها می‌توانند تأثیر مشابهی روی هپاتوسیت‌ها داشته باشند.

www.bbooks.ir

۹-برای هریک از اصطلاحات مرتبط با التهاب یکی از توضیحات ۱ تا ۱۱ را انتخاب کنید. هر توصیف ممکن است یک‌بار، بیش از یک‌بار و یا اصلاً استفاده نشود.

الف) بافت‌های فوق لنفاوی

ب) P و E سلکتین

پ) پروستاگلاندین

ت)NSAID ها

ث) ICAM-1، 2 و 3

ج) MadCAM

چ) برادی کینین

ح) اندوتلیوم ملتهب

توضیحات

۱- اتصال به ناحیه سیالیله کربوهیدرات‌ها

۲- مهار مسیر سیکلواکسیژناز

۳- تحریک تولید IkB

۴- دارای دومن‌های Ig و دومن‌های شبه موسین می‌باشند.

۵- ناحیه‌ای از اندوتلیوم عروقی که در وریدچه‌های پس مویرگی یافت می‌شود.

۶- توسط اندوتلیوم ملتهب عرضه می‌شود.

۷- شبکه عروقی شبه HEV در التهاب مزمن را نشان می‌دهد.

۸- متعلق به CAMهای خانواده بزرگ ایمونوگلبولینی است.

۹- افزایش عرضه CAMها را نشان می‌دهد.

www.bbooks.ir

۱۰- نتایج حاصل از عملکرد سیستم ایمنی در موش‌های فاقد مولکول های چسبان زیر را پیش‌بینی کنید.

الف)MadCAM

ب) L سلکتین

پ) زیر واحد β2 اینتگرین

۱۱-کموتاکسی یکی از راههایی است که سلول‌های ایمنی به جایگاهی خاص هدایت می‌شوند. در کدام یک از جملات زیر بین نوع سلول و کموکاین سازگاری وجود دارد؟

الف) کموکاین‌های CXC مانند IL-8 نوتروفیل‌ها را جذب می کنند.

ب)کموکاین‌های CCمانند MIP-1α منوسیت‌ها را جذب می‌کنند.

پ) جزء C7 کمپلمان ائوزینوفیل‌ها را جذب می‌کند.

ت) جزء C5a کمپلمان، منوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها را جذب می‌کند.

۱۲-LAD-1 با جهش در پروتئین مورد نیاز برای ترک نوتروفیل‌های خون جهت مقابله با عفونت مشخص می‌شود. این بیماران معمولاً پس از کودکی زنده نمی‌مانند، زیرا آنها نمی‌توانند عفونت‌های باکتریایی را از بین ببرند. چه روش‌هایی برای درمان این بیماری در نظر گرفته می‌شود؟

۱۳-چرا نوتروفیل‌ها قبل از ماکروفاژها به محل عفونت می‌رسند؟ با این که هر دو در جریان خون قرار دارند.

۱۴-مکانیسم‌های التیام صدمات بافتی، مانند سیستم کاینین و انعقاد، پاسخ التهابی را افزایش می‌دهند. اثرات متقابل این سیستم‌ها را توضیح دهند. فواید چنین اثرات متقابلی چیست؟

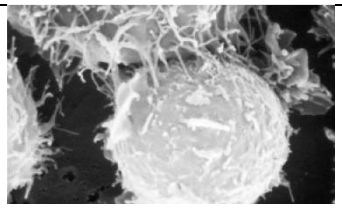
www.bbooks.ir

فصل چهاردهم

سیتوتوکسیسیته سلولی

- پاسخ‌های اجرایی
- خصوصیات عمومی سلول‌های T اجرایی
- سلول‌های T سیتوتوکسیک
- سلول‌های کشنده طبیعی
- سلول‌های NKT
- سایتوتوکسیسیته سلولی وابسته به آنتی‌بادی
- تشخیص آزمایشگاهی سایتوتوکسیسیته

www.bbooks.ir



بازوهای هومورال و سلولی سیستم ایمنی، نقش‌های متفاوتی در دفاع میزبان برعهده دارند. عوامل اجرایی بازوی هومورال، آنتی‌بادی‌ها می باشند. حوزه اصلی محافظتی آنتی‌بادی‌ها در خارج از سلول‌قرار دارد. اگر قرار بود آنتی‌بادی‌ها تنها عوامل دفاع ایمنی باشند، پاتوژن‌ها از دست آنها فرار کرده و در محیط داخل سلول تکثیر می‌یافتند و می‌توانستند از سیستم ایمنی بگریزند. اما این اتفاق نمی‌افتد. زیرا نقش اصلی ایمنی سلولی، شناسایی و حذف سلول‌هایی است که پناهگاه پاتوژن‌های داخل سلولی هستند، ایمنی سلولی، همچنین سلول‌هایی مانند سلول‌های توموری که تحت تغییرات ژنتیکی قرار دارند را شناسایی و حذف می‌کنند.

دو نوع سلول اختصاصی و غیر اختصاصی در پاسخ ایمنی سلولی شرکت دارند. سلول‌های اختصاصی آنتی‌ژن شامل لنفوسیت‌های $CD8^+Tc$(CTLها) و سلول‌های $CD4^+T_H$ ترشح کننده سایتوکاین که عامل ازدیاد حساسیت تأخیری (DTH) هستند، می‌باشند. واکنش‌های DTH و نقش سلول‌های $CD4^+T$ در تنظیم آن در فصل ۱۵ بحث خواهد شد. سلول‌های غیر اختصاصی آنتی‌ژن شامل سلول‌های NK و برخی سلول‌های غیر لنفوئیدی مانند ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها می‌باشند. تحقیقات اخیر روی سلول‌هایی تمرکز یافته‌اند که قبلاً شناخته نشده بودند، سلول‌هایی که هم مشخصه سلول‌های T اختصاصی و هم سلول‌های NK غیر اختصاصی را دارند. این هیبریدها سلول‌های NKT نامیده شده‌اند. اگر چه تا شناخت NKT ها راه درازی در پیش است ولی آنها در هر دو ایمنی ضد تومور و ضد باکتری شرکت دارند.

فعال شدن اجزای ایمنی سایتوتوکسیک اختصاصی و غیر اختصاصی، وابسته به غلظت مؤثری از سایتوکاین‌های مختلف است. سلول‌های NK،T، دندریتیک و ماکروفاژها مهمترین

www.bbooks.ir

منابع تولید سایتوکاین‌هایی هستند که سایتوتوکسیستیه سلولی را حمایت و سازمان‌دهی می‌کنند.

فعال‌سازی سلول‌ها برای اعمال کشتار سلولی، نیازمند همکاری سلول‌های مختلف است و در آخر این که، اگر چه ایمنی هومورال و سلولی از برخی جنبه‌ها با یکدیگر تفاوت دارند ولی کاملاً مستقل از یکدیگر نیستند. سلول‌هایی مانند ماکروفاژها، NKها، نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها می‌توانند از آنتی‌بادی‌ها به عنوان پذیرنده برای تشخیص و کشتار سلول هدف استفاده کنند. همچنین پپتیدهای کموتاکتیک تولید شده ناشی از فعالیت کمپلمان در پاسخ به تشکیل مجموعه آنتی‌ژن – آنتی‌بادی، می‌توانند در تجمع سلول‌های مورد نیاز برای پاسخ سلولی شرکت کنند. در فصل‌های پیشین، جنبه‌های مختلفی از پاسخ‌های اجرایی هومورال و سلولی توصیف شده‌اند. این فصل بر مکانیسم‌های اجرایی سایتوتوکسیک با واسطه سلول‌های Tc، NK، NKT، سایتوتوکسیستیه سلولی با واسطه آنتی‌بادی (ADCC) و آزمون‌های سایتوتوکسیسیته تأکید دارد.

- پاسخ‌های اجرایی

اهمیت بالینی ایمنی سلولی زمانی که نقصی در سیستم بوجود می‌آید، آشکار می‌گردد. کودکان مبتلا به سندرم دی‌جرج که فاقد سلول‌های T می‌باشند، معمولاً قادر به دفاع در برابر عفونت باکتری‌های خارج سلولی بوده، اما نمی‌توانند به طور مؤثر پاتوژن‌های داخل سلولی را حذف نمایند. فقدان عملکرد ایمنی سلولی منجر به عفونت رایج ویروسی، باکتری‌های داخلی سلولی و قارچ‌ها می‌شود. نقص ایمنی سلولی در این کودکان به حدی است که حتی ویروس‌های تخفیف حدت یافته موجود در واکسن‌ها که در افراد سالم رشد محدودی دارند، می‌توانند سبب ایجاد عفونت‌های تهدید کننده زندگی شوند.

www.bbooks.ir

پاسخ ایمنی سلولی براساس نوع جمعیت سلول‌های اجرایی به دو گروه اصلی تقسیم می‌شود. یک گروه از سلول‌های اجرایی فعالیت کشندگی دارند که فاگوسیت‌ها و سلول‌های تغییر یافته خودی را با افزایش واکنش‌های سایتوتوکسیک حذف می‌کنند. این سلول‌ها خود به دو گروه عمده تقسیم می‌شوند: یکی لنفوسیت‌های Tc ویژه آنتی‌ژن و دیگری سلول‌های NK و ماکروفاژها، گروه دوم زیر جمعیتی از سلول‌های $CD4^+T$ اجرایی هستند که واکنش‌های ازدیاد حساسیت تأخیری را میانجی‌گری می‌کنند.

- خصوصیات عمومی سلول‌های T اجرایی

سه نوع اصلی سلول‌های اجرایی (سلول‌های $CD4^+T_H1$، $CD4^+T_H2$، CTL های $CD8^+$)خصوصیاتی دارند که عامل تمایز آنها از سلول‌های Tدست نخورده سایتوتوکسیک و کمک‌کننده می‌باشد (جدول ۱-۱۴) سلول‌های اجرایی، با نیازمندی‌های اندک برای فعال‌شدن، افزایش عرضه مولکول‌های چسبان سلولی و تولید مولکول‌های اجرایی محلول و غشایی مشخص می‌شوند.

TABLE 14-1 Comparison of naive and effector T cells

Property	Naive T cells	Effector T cells
Costimulatory signal (CD28-B7 interaction)	Required for activation	Not required for activation
CD45 isoform	CD45RA	CD45RO
Cell adhesion molecules (CD2 and LFA-1)	Low	High
Trafficking patterns	HEVs* in secondary lymphoid tissue	Tertiary lymphoid tissues; inflammatory sites

*HEV = high-endothelial venules, sites in blood vessel used by lymphocytes for extravasation

www.bbooks.ir

- نیازهای متفاوت سلول‌های T جهت فعال شدن

همان‌گونه که در فصل ۱۰ شرح داده شد، فعال‌شدن سلول‌های T دست نخورده و در نتیجه تکثیر و تمایز آنها به سلول‌های T اجرایی نیازمند یک پیام اولیه ویک پیام کمک تحریکی می‌باشد. برخلاف آن، سلول‌های اجرایی باتجربهٔ برخورد با آنتی‌ژن و سلول‌های خاطره‌ای قادر به ایجاد پاسخ به پیام‌های رسیده از TCRدر حضور مقادیر کم یا عدم حضور مولکول‌های کمک تحریکی می‌باشند. مکانیسم نیازهای متفاوت سلول‌های Tدست نخورده و فعال شده تحت بررسی است، اما برخی از آنها شناخته شده‌اند. بسیاری از جمعیت‌های دست نخورده و اجرایی سلول‌های T، ایزوفرم‌هایی متفاوت از CD45 (CD45RO، CD45RA) را عرضه می‌کنند. هر دوی این مولکول‌های غشایی در انتقال پیام TCR بواسطه فسفریلاسیون زیر واحدهای تیروزینی پروتئین‌کنیازهای Lck و Fyn دخالت دارند وسبب فعال شدن این کنیازها و آغاز مراحل بعدی فعال‌سازی سلول‌های T می‌شوند (شکل‌های ۱۰-۱۰ و ۱۱-۱۰). سلول‌های اجرایی CD45RO را عرضه می‌کنند که همراهی آن با مجموعهٔ TCR و کمک پذیرنده‌های CD4 یا CD8 بسیار بهتر از ایزوفرم CD45RA عرضه شده روی سلول‌های Tدست نخورده است. سلول‌های T خاطره‌ای هر دو ایزوفرم را دارند ولی CD45RO غالب می‌باشد. در نتیجه، سلول‌های T اجرایی و خاطره‌ای به فعال سازی توسط TCR حساس‌ترند.

- مولکول‌های چسبان سلولی، واکنش‌های با واسطه TCR را تسهیل می‌کنند

CD2 و اینتگرین LFA-1، مولکول‌های چسبان سلولی عرضه شده روی سلول‌های T هستند که به ترتیب به LFA-3و ICAM-1 سلول‌های هدف و APCها اتصال می‌یابند (شکل ۳-۹)، میزان CD2 و LFA-1 های سطح سلول‌های T اجرایی ۳ تا ۴ برابر بیش‌تر از سلول‌های T دست نخورده می‌باشد.

www.bbooks.ir

همان‌طور که در فصل ۹ نشان داده شد، واکنش اولیه میان سلول T اجرایی و APC یا سلول هدف واقعاً ضعیف است و به TCR امکان می‌دهد که غشا را برای حضور پپتیدهای عرضه شده توسط مولکول MHC خودی جستجو کند. اگر هیچ‌کدام از مجموعه‌های پپتید-MHC توسط سلول‌های T اجرایی شناخته نشوند، سلول اجرایی از سلول هدف یا APC جدا خواهد شد. با این حال، شناسایی مجموعه پپتید -MHC توسط TCR، پیام‌هایی را ایجاد می‌کند که موجب افزایش میل پیوندی LFA-1 برای ICAM های روی APC یا سلول هدف می‌شود و منجر به طولانی شدن واکنش این سلول‌ها می گردد.

- مولکول‌های اجرایی متنوعی توسط سلول‌های T اجرایی عرضه می‌شوند

سلول‌های T اجرایی مولکول‌های اجرایی محلول و غشایی مشخصی را عرضه می‌کنند که توسط سلول‌های Tدست نخورده بیان نمی‌گردند (جدول ۲-۱۴). این مولکول‌ها شامل پروتئین‌های غشایی متعلق به خانواده TNF مثل لیگاند Fas (FasL) روی سلول‌های $CD8^+Tc$ و TNF-β روی سلول‌های T_H1 و CD40L (CD154) روی سلول‌های T_H2 می‌باشند.

TABLE 14-2 Effector molecules produced by effector T cells

Cell type	Soluble effectors	Membrane-bound effectors
CTL	Cytotoxins (perforins and granzymes), IFN-γ, TNF-β	Fas ligand (FASL)
T_H1	IL-2, IL-3, TNF-β, IFN-γ, GM-CSF (high)	Tumor necrosis factor β (TNF-β)
T_H2	IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, GM-CSF (low)	CD40 ligand

هر کدام از جمعیت‌های سلول T اجرایی مجموعه متفاوتی از مولکول‌های اجرایی محلول را نیز ترشح می‌کنند. CTLها سایتوتوکسین‌های پرفورین[1] و

1- perforin

www.bbooks.ir

گرآنزیم [1] و دو سایتوکاین TNF-β و IFN-γ را ترشح می‌کنند. همان طور که در فصل ۱۲ بیان شد، مجموعه‌های T_H1 و T_H2دسته‌ای از سایتوکاین‌های غیر همپوشان را ترشح می‌کنند.

هر کدام از این مولکول‌های اجرایی، نقش مهمی در عملکردهای سلولی برعهده دارند. برای مثال، FasL، پرفورین و گرآنزیم‌ها در تخریب سلول‌های هدف توسط CTL ها نقش دارند. TNF-β غشایی و GM-CSF و IFN-γ محلول، فعال‌سازی ماکروفاژها را افزایش می‌دهند و CD40L غشایی و IL-4، 5 و 6 محلول نقش مهمی در فعال‌سازی سلول Bدارند.

- سلول‌های Tسایتوتوکسیک

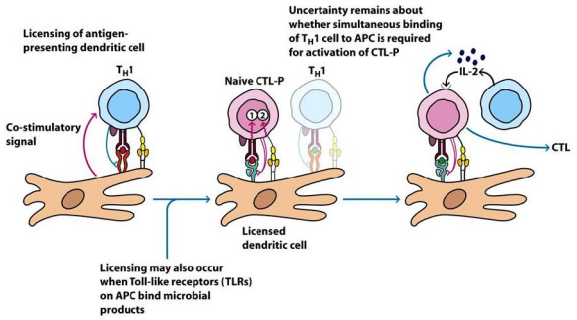
CTLها در نتیجه فعال‌سازی سلول‌های Tc به وجود می‌آیند. این سلول‌های اجرایی قدرت لیتیک داشته و در شناسایی و حذف سلول‌های آلوده به ویروس و سلول‌های تومروی و سلول‌های با منشأ ژنتیکی متفاوت (واکنش‌رد پیوند) حیاتی می‌باشند. معمولاً CTLها، $CD8^+$ هستند، بنابراین محدود به MHC-I می‌باشند و تقریباً هر سلولی در بدن که آنتی‌ژن‌های اختصاصی را در مجاورت MHC-I عرضه کند، توسط آنها شناسایی و حذف می‌گردد. پاسخ ایمنی با واسطه CTLها به دو مرحله تقسیم می‌شود. مرحلهٔ اول شامل تمایز سلول‌های Tc دست نخورده به CTLهای اجرایی بوده و در مرحله دوم، CTLهای اجرایی مجموعه پپتید- MHC-I را روی سلول‌های هدف اختصاصی شناسایی کرده و آنها را تخریب می‌کنند.

1- granzyme

www.bbooks.ir

- CTLهای اجرایی از سلول‌های پیش ساز تولید می‌شوند

سلول‌های Tc دست نخورده قادر به کشتن سلول‌های هدف نمی‌باشند وبنابراین بـه آنهـا پیش‌ساز CTL(CTL-Ps) اتلاق می‌شود. آستانه تشـکیل CTLهـای فعـال از CTL-P هـا، نیازمند حضور حداقل سه پیام متوالی می‌باشد.(شکل ۱-۱۴):



شکل ۱-۱۴: تولید سلول های CTL اجرایی.

۱. پیام‌رسانی ویژه آنتی‌ژن، توسط مجموعه TCR شناسایی کننده پپتیـدMHC-I روی APCهای مجاز.

۲. پیام رسانی کمک تحریکی، توسط واکنش CD28-B7 بین CTL-Pها و APC هـای مجاز

۳. پیام القا شده توسط واکنش IL-2 با پذیرنده با میل پیوندی بالا

بدیهی است که فعال شدن CTL-Pها، نتیجه شناسایی آنتـی‌ژن همـراه مولکـول MHC-I روی APCها می‌باشد. اما علاوه بر آن، APCها بایستی ابتدا توانایی فعال‌سازی CTL-Pهـا را طی روندی به نام صدور مجوز[1] کسب کنند (شکل ۱-۱۴). صدور مجوز در طی واکـنش میان APC و یک سلول T_H1 از طریق عرضـه آنتـی‌ژن همـراه مجموعـه MHC-II اتفـاق

1- licensing

www.bbooks.ir

می‌افتد. صدور مجوز همچنین نیازمند واکنش کمک تحریکی بین CD40 و CD40L سلول T_H1 است.

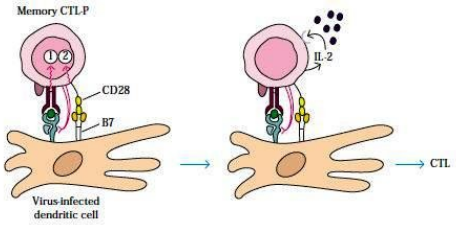
صدور مجوز همچنین در برخی مواقع مثلاً درطی واکنش میان پذیرنده شبه Toll روی APCها با محصولات میکربی روی می‌دهد. نقش دقیق سلول‌های T_H1 در تولید CTLها از CTL-P های دست نخورده کاملاً شناخته شده نمی‌باشد و اکنش مستقیم T_H1 و CTL-P بعید می‌باشد. با این حال، IL-2 در تبدیل CTL-P های دست نخورده به سلول‌های اجرایی مهم می‌باشد.

چنین نیاز سخت‌گیرانه‌ای که هر دو سلول T_H1 و Tc باید آنتی‌ژن را بشناسند تا Tc بتواند به CTL تبدیل شود، بدن را از ایجاد واکنش علیه خود سلول‌های سایتوتوکسیک محافظت می‌کند. پدیده عرضه متقاطع (فصل ۸) به احتمال زیاد تنها منحصر به سلول‌های دندریتیک است و امکان عرضه آنتی‌ژن‌های با منشاء خارجی را توسط هردو MHC کلاس I و II می‌دهد. این پدیده امکان شناسایی همزمان مولکول‌های MHC کلاس Iو II روی یک سلول دندریتیک توسط سلول‌های $CD4^+$ و $CD8^+$ را می‌دهد. تفاوت‌های قابل تشخیصی در سلول‌های $CD8^+$ قبل و پس از تغییر از CTL-P به CTL ها وجود دارد. CTL-Pهای فعال نشده که IL-2 یا پذیرنده آن را عرضه نمی‌کنند، تکثیر نمی‌شوند و فعالیت سایتوتوکسیک از خود نشان نمی‌دهند. فعال‌سازی سبب القای شروع تولید پذیرنده IL-2 و مقادیر بسیار اندک IL-2 توسط CTL-Pها می‌شود؛ IL-2 سایتوکاین اساسی مورد نیاز برای تکثیر و تمایز CTL-P ها می‌باشد. CTL-Pهای خاطره‌ای، که نیازمندی‌های فعال‌سازی کمتری نسبت به سلول‌های دست نخورده دارند (شکل ۲-۱۴) نیاز کمتری نیز به IL-2 برای فعال شدن نسبت به CTL-P های دست نخورده دارند.

معمولاً اغلب CTL-Pهای فعال شده به IL-2های اضافی تولید شده توسط T_H1، برای تکثیر و تمایز به CTLهای اجرایی احتیاج دارند. در موش‌های با ژن تخریب شده IL-2، سیتوتوکسیسیته با واسطه CTLها از بین می‌رود. این حقیقت که پذیرنده IL-2 تنها پس از

www.bbooks.ir

فعال شدن CTL-Pها از طریق شناسایی آنتی‌ژن در کنار مولکول‌های MHC-I انجام می‌گیرد، گسترش کلونی و کسب خاصیت سیتوتوکسیسیته را محدود به CTL-P هایی می‌کند که آنتی‌ژن را به طور اختصاصی شناسایی می‌کنند.



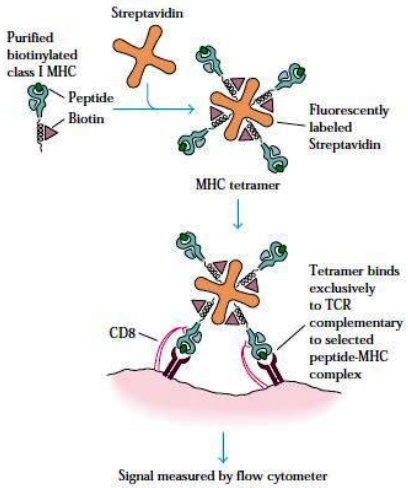
شکل ۲-۱۴: تکثیر سلول های CTL-P خاطره ای مستقل از سلول های T_H می باشد. به نظر می رسد که CTL-P های خاطره ای فعال شده با آنتی ژن، IL-2 ترشح کرده و موجب تکثیر و تمایز آنها به CTL های اجرایی می شود.

پس از پاکسازی آنتی‌ژن، سطح IL-2 کاهش می‌یابد، که مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌های T_H1 و CTLرا القا می‌کند. بدین‌گونه، پاسخ ایمنی به سرعت خاتمه یافته و احتمال صدمه غیراختصاصی بافتی در نیتجه پاسخ‌های التهالی را کاهش می‌دهد.

- CTLهای $CD8^+$ توسط تکنولوژی MHC تترامر شناسایی می‌شوند

MHC تترامر، یک مجموعه تولید شده در آزمایشگاه است که از چهار مولکول MHC کلاس I متصل به پپتید که با ماده فلوئورسنت نشاندار شده‌اند، تشکیل شده است (شکل ۳-۱۴)، یک مجموعه پپتید –MHC تترامر، تنها به سلول‌های $CD8^+T$ که TCR اختصاصی برای مجموعه پپتید –MHC دارند، اتصال می‌یابد.

www.bbooks.ir

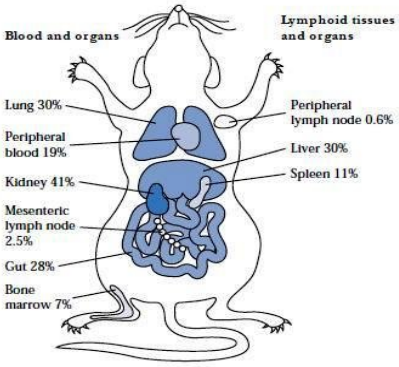


شکل ۳-۱۴: تترامرهای MHC. یک جمعیت همگن از مولکول های MHC-I متصل به پپتید که با بیوتین کونژوگه شده و با استرپتاویدین نشاندار شده با فلورسنت مخلوط شده است.

بنابراین، وقتی که یک تترامر ویژه به جمعیت سلولی حاوی سلول‌های T اضافه شود، سلول‌هایی که TCR اختصاصی برای تترامر دارند، بوسیله فلوئورسانس نشاندار می‌شوند. با استفاده از فلوسایتومتری، می‌توان نسبت سلول‌هایی که TCRاختصاصی برای آنتی‌ژن‌های ویژه را دارند، تعیین نمود. این روش بسیار حساسی است که می‌تواند سلول‌های T اختصاصی آنتی‌ژن را حتی اگر مقدار آنها ۰/۱ درصد کل جمعیت $CD8^+$ باشد را شناسایی کند.

به علاوه افزایش سلول‌های $CD8^+T$ در پاسخ به ویروس‌ها و آنتی‌ژن‌های مرتبط با تومور را نیز می‌توان مستقیماً سنجید. در روش مشابهی، محققان موش هایی را با ویروس استئوماتیت وزیکولار (VSV)آلوده کردند و توزیع سلول‌های $CD8^+$ اختصاصی برای MHC-VSV را در سرتاسر بدن بررسی کردند. این بررسی نشان داد که در طول عفونت حاد با VSV، توزیع سلول‌های $CD8^+$ ویژه VSV یک شکل نمی‌باشد (شکل ۴-۱۴).

www.bbooks.ir

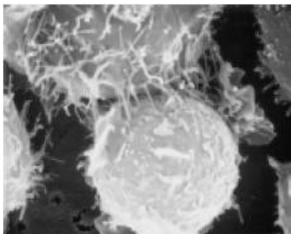


شکل ۴-۱۴: استقرار جمعیت های سلول $CD8^+$ T ویژه آنتی ژن در بدن موش هایی که با ویروس وزیکولار استوماتیت آلوده می شوند.

اکثر جمعیت سلول‌های اختصاصی آنتی‌ژن، محدود به سیستم لنفاوی نبوده و ممکن است در کلیه و کبد نیز یافت شوند.

- CTLها از دو طریق سلول‌ها را می‌کشند

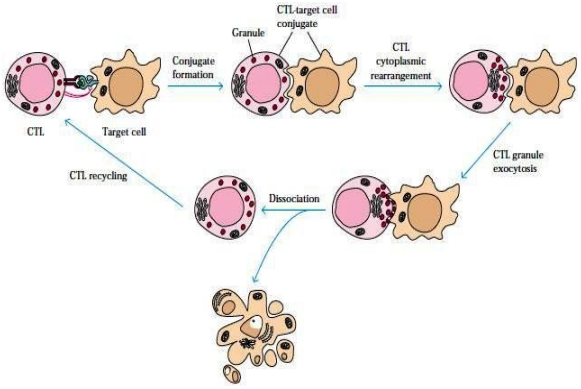
مرحله اجرایی پاسخ با واسطه CTL، شامل ترتیبی از وقایع به دقت تنظیم شده می‌باشد که با اتصال سلول حمله کننده به سلول هدف آغاز می‌شود (شکل ۵-۱۴).



شکل ۵-۱۴: میکروگراف الکترونی از حمله CTL به سلول توموری.

وقایع ابتدایی در مرگ با واسطه CTL، شامل اتصال، حمله به غشا، جدایی CTL و تخریب سلول هدف می باشند.(شکل ۶-۱۴).

www.bbooks.ir



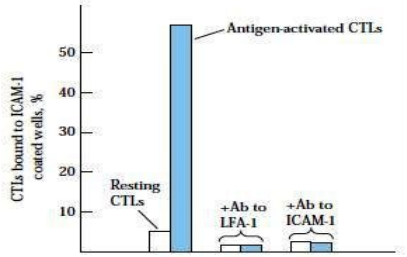
شکل ۶-۱۴: مراحل کشتار سلول های هدف با واسطه CTL.

وقتی CTL های ویژه آنتی‌ژن با سلول‌های هدف مناسب مجاور می‌شوند، دو سلول با یکدیگر میانکنش داده و کونژوگه تشکیل می‌شود. بدنبال تشکیل کونژوگه CTL- سلول هدف (پس از چند دقیقه با واسطه فرآیند وابسته به Ca^{2+} و آنرژی) CTL دستور مرگ سلول هدف را صادر می‌کند. سپس CTL از سلول هدف جدا شده و به سلول هدف دیگری متصل می‌شود. در طی مدتی (بیش از چند ساعت) پس از جدایی CTL، سلول هدف در اثر آپوپتوز می‌میرد.

شروع این روند با شناسایی آنتی‌ژن همراه MHC-I روی سلول هدف توسط مجموعه غشایی TCR-CD3 سلول CTL همراه است. پس از این شناسایی، پذیرنده‌های اینتگرینی LAF-1 روی CTL به ICAM های سلول هدف اتصال یافته و شکل کونژوگه ایجاد می‌شود. فعال‌سازی CTL با واسطه آنتی‌ژن موجب تغییر میل پیوندی LFA-1 از حالت میل پیوندی پایین به حالت با میل پیوندی بالا می‌شود(شکل ۷-۱۴).

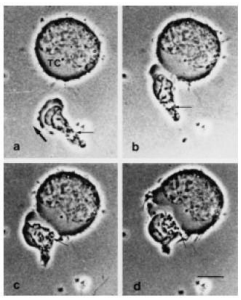
LFA-1 پس از فعال‌سازی با واسطه آنتی‌ژن، تنها ۵ تا ۱۰ دقیقه در حالت با میل پیوندی بالا باقی مانده و پس از آن دوباره به حالت میل پیوندی پایین باز می‌گردد. این حالت جدایی CTL از سلول هدف را تسهیل می‌کند.

www.bbooks.ir



شکل ۷-۱۴: اثر فعال سازی آنتی ژن بر روی توانایی CTL در اتصال به مولکول چسبان داخل سلولی ICAM-1.

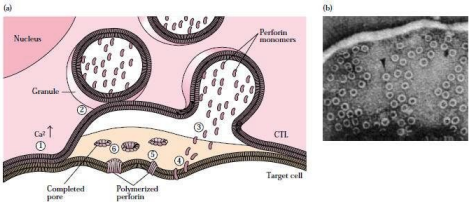
مشاهده CTLها با میکروسکوپ الکترونی، وجود گرانول‌های ذخیره‌ای متراکم داخل سلولی را در آنها آشکار ساخته است. این گرانول‌ها جداسازی شده و مشخص گردیده که به تنهایی عامل تخریب سلول هدف می‌باشند. بررسی محتوای گرانول نشان داد که منومری‌های KDa ۵۶ از پروتئین‌های ایجاد کننده منفذکه پرفورین خوانده می‌شوند و چندین سرین پروتئاز که گرآنزیم نامیده می‌شوند در این گرانول‌ها حضور دارند. CTL-Pها فاقد گرانول‌های سیتوپلاسمی و پرفورین می باشند وطی فعال‌شدن، گرانول‌های سیتوپلاسمی حاوی منومرهای پرفورین تازه سنتز شده در آنها بروز می‌یابند.



شکل ۸-۱۴: تشکیل کونژوگه بین یک CTL و یک سلول هدف و جهت یابی گرانول های سیتوپلاسمی CTL. (a) یک CTL موش که به یک سلول هدف مناسب می رسد. (b) تماس اولیه CTL و سلول هدف. (c) گسترش تماس اولیه و بازآرایی گرانول های سیتوپلاسمی در CTL در مدت ۲ دقیقه. (d) حرکت گرانول بعد از ۱۰ دقیقه از تماس اولیه.

www.bbooks.ir

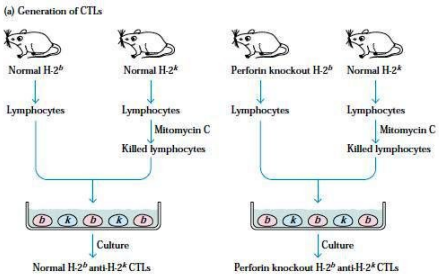
تشکیل منفذ در غشای سلول هدف یکی از راه‌های ورودگرآنزیم با واسطه پرفورین است و راه دیگر با همکاری پرفورین انجام می‌گیرد. بدین طریق که بسیاری از سلول‌های هدف، مولکولی تحت عنوان پذیرنده مانوز ۶ فسفات روی سطح خود دارند که می‌تواند به گرآنزیم B نیز اتصال یابد. مجموعهٔ گرآنزیم B/ پذیرنده مانوز ۶ فسفات به داخل سلول کشیده شده و به شکل وزیکولی در سلول در می‌آید. پرفورین نیز در همان زمان و همراه با آن به داخل کشیده شده و تشکیل منافذی را می‌دهد که سبب رها شدن گرآنزیم B از وزیکول به داخل سیتوپلاسم سلول هدف می‌شود. به محض ورود گرآنزیم B به داخل سیتوپلاسم، آبشاری از واکنش‌ها به راه می‌افتد که منجر به قطعه قطعه شدن DNA سلول هدف به الیگومرهای ۲۰۰ جفت بازی می‌شود. گرآنزیم‌ها مستقیماً سبب قطعه قطعه شدن DNA نمی‌شوند، بلکه آنها مسیرهای آپوتپوز را در سلول هدف فعال می‌کنند.



شکل ۹-۱۴: تشکیل منفذ در غشای سلول هدف توسط CTL.

به طور شگفت‌انگیزی، DNA ویروسی که سلول‌های هدف راآلوده کرده است نیز طی این روند، قطعه قطعه می‌گردد. این مشاهدات نشان دادند که کشتار با واسطه CTL، نه تنها سلول‌های آلوده به ویروس را از بین می‌برد، بلکه می‌تواند DNA ویروس داخل این سلول‌ها را نیز تخریب کند. پیشنهاد شده است که شروع سریع تکه‌تکه شدن DNA پس از تماس CTL، مانع از ادامه همانند سازی و تجمع ویروس قبل از تخریب کامل سلول هدف می‌گردد.

www.bbooks.ir



(b) Interaction of CTLs with Fas+ and Fas− targets

CTLs	Target cells: Normal H-2k	Target cells: lpr mutant H-2k (no Fas)
Normal H-2b anti-H-2k	Killed	Killed
Perforin knockout H-2b anti-H-2k	Killed	Survive

شکل ۱۰-۱۴: اثبات آزمایشگاهی از این که CTLها از مسیر پرفورین و Fas استفاده می کنند. (a) تولید CTL ها. (b) برهمکنش CTL ها با سلول های Fas^+ و Fas^-.

برخی دودمان‌های CTL، فاقد پرفورین و گرآنزیم بوده و در آنها، سایتوتوکسیسیته، با واسطه Fas انجام می‌شود. این پروتئین غشایی که عضوی از خانواده پذیرنده TNFمی‌باشد. با اتصال به لیگاند خود پیام‌های مرگ را مخابره می‌کند. لیگاند Fas عضوی از خانواده TNF بوده (شکل ۱۹-۱۰) و روی غشای CTL وجود دارد. اتصال FasL به Fas سلول‌های هدف، منجر به آپوپتوز آنها می‌شود. محققان دریافته‌اند که روند کشتار تمام CTLها با واسطه پرفورین یا Fas یا تلفیقی از این دو صورت می‌گیرد و هیچ مکانیسم دیگری شناخته نشده است. برای آغاز مرگ‌های آپوپتوزی سلول‌های هدف به واسطه CTLها، تنها دو مکانیسم وجود دارد:

- انتقال جهت‌دار پروتئین‌های سایتوتوکسیک (پرفورین وگرآنزیم) که از CTLها رها شده و وارد سلول هدف می‌شوند.
- واکنش لیگاند Fas غشای CTLها به پذیرنده Fas روی سطح سلول‌های هدف.

هر کدام از این وقایع اساسی، منجر به فعال شدن مسیرهای انتقال پیامی می‌شود که در نهایت موجب مرگ سلول‌های هدف از طریق آپوپتوز می‌شوند (شکل ۱۱-۱۴).

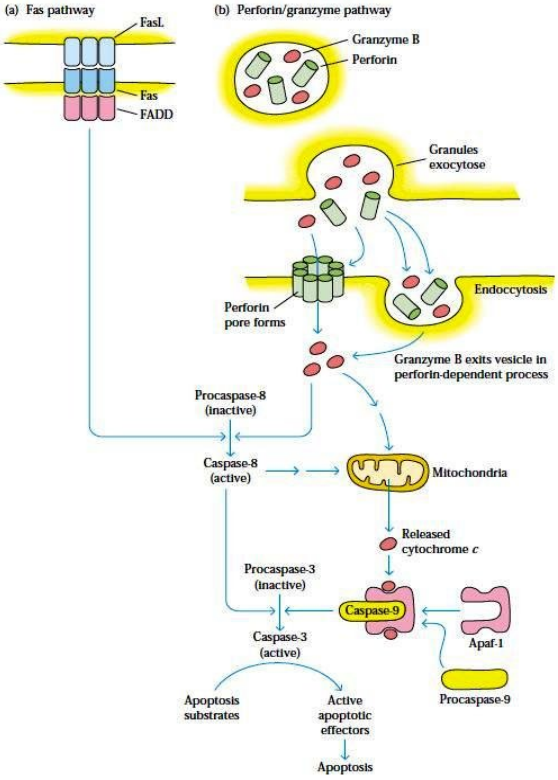
www.bbooks.ir

یک مشخصه مرگ سلولی با واسطه آپوپتوز، دخالت خانواده‌ای از پروتئازهـای سیسـتئینی به نام کاسپازها[1] بوده که برش خود را بعد از یک واحد اسید آسپارتیک انجام می‌دهند. نـام کاسپاز ترکیبی از تمام این عناصر (سیسـتئین، آسـپارتات و پروتئـاز) مـی‌باشـد. در حالـت طبیعی، کاسپازها به صورت پروآنزیم‌های غیر فعال (پروکاسپاز) وجود دارند، که برای تبدیل شدن به فرم فعال، نیازمند هضم پروتئولیتیک می‌باشند. بـیش از ۱۲ نـوع کاسـپاز متفـاوت شناسایی شده که هر کدام ویژگی منحصر به فردی دارند.

CTLها از گرآنزیم‌ها و لیگاندهای Fas جهت آغاز آبشار کاسپازی در سلول‌هـای هـدف خود استفاده می‌کنند. گرآنزیم‌های CTL با ورود به سلول‌هدف، حـوادث پروتئولیتیـک کـه منجر به فعال‌سازی یک کاسپاز ابتدایی می‌شود را میانجی‌گری می‌کننـد. بـه همـین شـکل، واکنش Fas سلول هدف با FasL روی CTL، سبب فعـال شـدن یـک کاسـپاز ابتـدایی در سلول هدف می‌گردد. Fas با پروتئینی به نام FADD (پروتئین حاوی دومـن مـرگ همـراه Fas که در همراهی با پروکاسپاز 8 می‌باشد) همراه است. با اتصال متقاطع Fas، پروکاسپاز8 به کاسپاز8 تبدیل شده و آبشاری از کاسپازهای آپوپتوزی را به راه می‌اندازد. پیامـد هـر دو مسیر گرآنزیم/پرفورین و FasL/Fas فعال سازی مسیرهای مرگ خاموش در سلول هـدف می‌باشد. همان‌طور که یکی از ایمونولوژیست‌ها جمله شایسته‌ای در این مورد گفته، CTLهـا سلول‌های هدف را نمی‌کشند، بلکه آنها را متقاعد می‌کنند تا خودکشی نمایند.

1-caspase family

www.bbooks.ir



شکل ۱۱-۱۴: دو مسیر آپوپتوز سلول هدف با واسطه CTL ها.

- سلول‌های NK

کشف سلول‌های NK کاملاً اتفاقی بود و زمانی که ایمونولوژیست‌ها در حال سنجش فعالیت سلول‌های اختصاصی تومور به دست آمده از موش‌های توموری در محیط آزمایشگاه بودند، به آنها برخوردند. موش‌های غیر ایمن طبیعی و موش‌هایی با تومورهای غیر مرتبط به عنوان کنترل منفی استفاده شدند. زمانی که گروه‌های کنترل سلول‌های توموری را لیز نمودند تعجب محققان بیشتر شد.

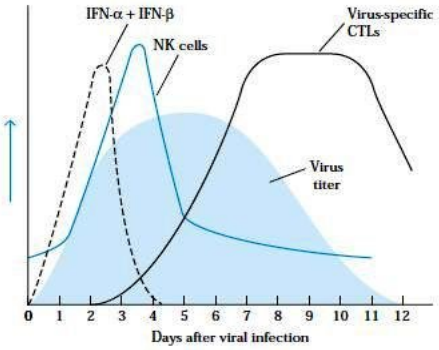
شناخت این کشتار غیر اختصاصی سلول توموری آشکار نمود که جمعیتی از لنفوسیت‌های گرانول‌دار بزرگ مسئول این امر می‌باشند. این سلول‌ها، سلول‌های کشنده طبیعی (NK)

www.bbooks.ir

نامیده شده و ۱۰-۵٪ جمعیت لنفوسیت‌های در گردش را تشکیل می‌دهند. این سلول‌ها در دفاع ایمنی برعلیه ویروس‌ها، سایر پاتوژن‌های داخل سلولی و تومورها دخیلند. به دلیل این که سلول‌های NK برخی از سایتوکاین‌های مهم ایمنی را تولید می‌کنند، آنها در تنظیم ایمنی مشارکت داشته و روی ایمنی ذاتی و اکتسابی تأثیر می‌گذارند. به خصوص تولید IFN-γ مشتق شده از سلول‌های NKمی‌تواند سبب متعهد شدن جمعیت سلول‌های T_H به سمت T_H1 شود.

سلول‌های NKدر پاسخ‌های ابتدایی علیه برخی عفونت‌های ویروسی و باکتری‌های داخل سلولی دخیل می‌باشند.

فعالیت NK بوسیله IL-12، IFN-α،IFN-β تحریک می‌شود. در طی عفونت‌های ویروسی، میزان این سایتوکاین‌ها سریعاً افزایش می‌یابد و بلافاصله پس از آن، منحنی افزایش NK در روز سوم به حداکثر خود می‌رسد (شکل ۱۲-۱۴).



شکل ۱۲-۱۴: محدوده زمانی یک عفونت ویروسی.

سلول‌های NK اولین خط دفاعی در برابر ویروس ها بوده و تکثیر ویروسی را طی زمان مورد نیاز برای فعال‌شدن، تکثیر و تمایز CTL-P (حدود ۷ روز) کنترل می‌کنند.

www.bbooks.ir

- برخی جنبه‌های مشترک سلول‌های T و سلول‌های NK

سلول‌های NK، سلول‌های لنفوئیدی مشتق از مغز استخوان هستند که در پیش‌سازهای خود با رده سلول‌های T مشترک می‌باشند. آنها برخی از شاخص‌های غشایی منوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها و برخی شاخص‌های مختص سلول‌های T را عرضه می‌کنند. مولکول‌های غشایی عرضه شده توسط سلول‌های NKشامل CD122 (زیر واحد β ۷۵کیلودالتونی پذیرنده IL-2) و CD16 (FcγRIII)می‌باشند. با استفاده از آنتی‌بادی منوکلونال ضد CD16 می‌توان تقریباً تمام سلول‌هایی که فعالیت NKدارند را از خون محیطی جدا نمود.

علیرغم برخی شباهت‌های بین سلول‌های T و NK، تکوین سلول‌های NKمنحصر به تمیوس نمی‌باشد. برخلاف سلول‌های B و T، NKها تحت بازآرایی ژنی پذیرنده قرار نمی‌گیرند؛ تکوین NKها در موش‌هایی که حتی ژن RAG-1 و RAG-2 تخریب شده دارند نیز انجام می‌شود. قدرت NK ها و سایر مکانیسم‌های محافظتی ایمنی ذاتی، در جانوران فاقد ایمنی اکتسابی، به خوبی بوسیله خانواده‌ای از موش‌های با ژن تخریب شده RAG-1 نشان داده شده است (شکل ۱۳-۱۴).

شکل ۱۳-۱۴: خانواده موش های ژن تخریب شده RAG-1. این موش ها به علت فقدان سلول های B و T فاقد ایمنی اکتسابی می باشند، اما دارای سلول های NK و مکانیسم های ایمنی ذاتی هستند.

- کشتار سلول‌های NKمشابه با کشتار CTL ها می‌باشد

کشتار سلول‌های توموری و آلوده به ویروس توسط NKها، مشابه CTLها می‌باشد. FasL روی سلول‌های NKموجب القای مرگ سلول‌های هدف عرضه کننده Fas می‌شود.

www.bbooks.ir

سیتوپلاسم سلول‌های NKدارای گرانول‌های بی‌شماری حاوی پرفورین و گرآنزیم می‌باشد. برخلاف CTLها که قبل از ظهور گرانول‌ها باید فعال شوند، سلول‌های NKهمیشه سیتوتوکسیک بوده و مقادیر بالای گرانول دارند. پس از اتصال یک سلول NKبه سلول هدف، دگرانولاسیون اتفاق افتاده و موجب رها سازی پرفورین و گرآنزیم‌ها در محل اتصال دو سلول می‌شود.

علیرغم این شباهت‌ها، سلول‌های NKتفاوت‌هایی نیز با CTL دارند، اولاً، NKها پذیرنده‌های ویژه آنتی‌ژن سلول T و CD3 را عرضه نمی‌کنند. شناسایی سلول هدف توسط NKها محدود به MHC نمی‌باشد. برخلاف CTLکه آماده‌سازی اولیه، فعالیت آن را افزایش می‌دهد، فعالیت NK در برخورد دوباره با همان سلول توموری افزایش نمی‌یابد. به عبارت دیگر، در تولید پاسخ NK، خاطره ایمنی نداریم.

- سلول‌های NKهر دو گیرنده فعال‌سازی و مهاری را دارا می‌باشند

بدلیل این که سلول‌های NKپذیرنده‌های ویژه آنتی‌ژن را بیان نمی‌کنند، مکانیسم‌هایی که بوسیله آنها، این سلول‌ها، سلول‌های خودی تغییر شکل یافته را شناسایی کرده و آنها را از سلول‌های طبیعی متمایز می‌کنند، سال‌های متمادی ایمونولوژیست‌ها را متحیر کرده بود. NKها دو گروه از پذیرنده‌های فعال‌کننده و مهارکننده را به کار می‌گیرند. NKاز طریق تعادل میان پیام‌های فعال‌سازی و پیام‌های مهاری، سلول‌های سالم را از سلول‌های آلوده یا سرطانی تشخیص می‌دهند. پیام‌های اضافی برای فعال‌سازی NKها می‌توانند از عوامل محلولی شامل سایتوکاین‌هایی مثل IL-12، IL-15، TNF-α ، INF-γ باشد.

پذیرنده‌های NKبراساس خصوصیات ساختمانی، در دو گروه عمده طبقه‌بندی می‌شوند: پذیرنده‌های شبه لکتین و شبه ایمونوگلبولین. پذیرنده‌های شبه لکتین NKها بدلیل شباهت ساختاری با پروتئین‌های لکتین به این نام خوانده می‌شوند. علیرغم این شباهت ساختاری، اغلب پذیرنده‌های شبه لکتین NKها بیشتر به پروتئین‌ها متصل می‌شوند. گروه دوم

www.bbooks.ir

پذیرنده‌ها، اعضای خانواده بزرگ Igها می‌باشند (پذیرنده‌های شبه ایمونوگلبولین کشتار سلول یاKIR) که به مولکول‌های HLA-C یا HIA-B متصل می‌شوند. پذیرنده‌های شبه Ig مهاری مانند ILT/LIR نیز وجود دارند که به اکثر مولکول‌های MHC-I متصل می‌شوند. هر دو گروه پذیرنده‌های KIR و شبه لکتین حاوی دومن‌های فعال‌سازی ومهاری هستند. از روی ساختار خارج سلولی پذیرنده‌های NK نمی‌توان به سرعت، نقش فعال‌سازی یا مهاری آنها را پیش‌بینی کرد.

این موضوع که برخی پذیرنده‌ها ممکن است هم فعال کننده و هم مهارکننده باشند، قضیه را پیچیده‌تر می‌سازد. نواحی سیتوپلاسمی برخی پذیرنده‌های NK با ساختارهای خارج سلولی مشابه، حاوی دومن‌های داخل سلولی متفاوتی بوده و در نتیجه، پیام‌های متفاوتی را مخابره می‌کنند. برای مثال؛ پذیرنده شبه لکتین CD94:NKG2 دو فرم دارد، CD94:NKG2A و CD94:NKG-2C که هر دو به لیگاندهای مشابهی اتصال یافته ولی فرم A با فراخوانی فسفاتازهاموجب مخابره پیام‌های مهاری و فرم C همراه با یک ملکول تطبیق‌گر، سبب مخابره پیام‌های فعال کننده می‌شود. توالی داخل سلولی پذیرنده‌های NK که موجب فعال‌سازی می‌شود حاوی ITAM بوده و توالی‌های داخل سلولی پذیرنده‌های مهاری دارای ITIM هستند.

ماهیت دقیق پذیرنده‌های غشایی NK که موجب فعال‌سازی آن می‌شود، کاملاً شناخته شده نیست. اتصال متقاطع بسیاری از مولکول‌های سطح سلول‌های NK توسط آنتی‌بادی می‌تواند به طور مصنوعی این سلول‌ها را فعال سازد، اما لیگاندهای طبیعی برای برخی از این پذیرنده‌های فعال کننده[1] (ARs) شناخته نشده‌اند. برخی از ARها، عضوی از پروتئین‌های متصل شونده به کربوهیدرات به نام لکتین نوع C[2] می‌باشند که به دلیل دومن‌های شناسایی کننده کربوهیدرات وابسته به کلسیم (خصوصاً NKG2D که یکی از پذیرنده‌های مهم

1- activating receptors (ARs)
2- C-type lectin

www.bbooks.ir

فعال‌سازی NKها ست) به این نام خوانده می‌شوند. فعالیت NKG2D، مشابه آبشارهای انتقال پیامی است که توسط CD28 در سلول‌های T به راه می‌افتد. لیگاندهای NKG2D شامل MIC-A، MIC-B و پروتئین‌های خانواده ULPB در انسان، H60، Mult1 و پروتئین‌های خانواده Rae-1 در موش هستند. لیگاندهای NKG2D اغلب در اثر استرس‌هایی همچون تخریب DNA یا عفونت‌ها روی سلول‌ها بیان می‌شوند.

علاوه بر لکتین‌ها،مولکول‌های دیگری مانند CD2 (پذیرنده مولکول چسبان LFA-3)، CD244 (نام دیگر آن 2B4 یا پذیرنده CD48 می‌باشد) و CD16(FCγRIIL) نیز روی سلول‌های NK در فعال‌سازی دخلیند. اگر چه CD16 با واسطه شناسایی آنتی‌بادی، مسئول مرگ سلول‌ه‌ای هدف توسط NKها می‌باشد، احتمالاً در کشتار غیر وابسته به آنتی‌بادی دخالت ندارند. علاوه بر مولکول‌های اشاره شده، سه پروتئین NKp30، NKp44، NKp46 نیز نقش مهمی در فعال‌سازی NKهای انسانی برعهده دارند.

لیگاندهای سلول‌های هدف که بوسیله بیشتر پذیرنده‌های NK شناسایی می‌شوند هنوزناشناخته‌اند و حتی برخی که شناخته شده‌اند عملکردهای مبهمی از هر دو فعالیت‌مهاری و فعال‌سازی را نشان می‌دهند. برای مثال، پذیرنده‌های CD94:NKG2 نوع A و C با وجودی که به یک لیگاند متصل می‌شوند، می‌توانند پیام‌های مهاری یا فعال‌سازی را انتقال دهند. شناخته‌شده‌ترین لیگاندهای فعال‌سازی مولکول‌های MIC-A و MIC-B کد شده توسط HLA هستند. این مولکول‌ها، غیر پلی‌مورفیک و شبه MHC-I هستند که توسط NKG2D شناسایی می‌شوند. القا و عرضه پروتئین‌های MIC-B و MIC-A روی سلول‌های تحت استرس عفونت، گرما یا تروما صورت می‌گیرد. با اتصال NKG2D به این لیگاندها، پاسخی شامل فراخوانی گرانول‌های سایتوتوکسیک و رهایی سایتوکاین‌ها منجر به مرگ سلول هدف می‌شود.

لیگاندهای مهاری سلول‌های NK از لیگاندهای فعال‌سازی، پیچیده‌تر می‌باشند. اساس شناسایی پیام‌های مهاری از بررسی کشتار سلول‌های تومروی و آلوده به ویروس توسط

www.bbooks.ir

NKها به دست آمده است. آزمایش بر روی سلول‌های انسانی نشان داده که سلول‌های NK، سلول‌های B را که در اثر آلودگی با EBV نقص MHC داشتند، لیز می‌کنند. از آنجایی که بسیاری از آلودگی‌های ویروسی و سلول‌های تومـوری موجب کاهش عرضه MHC می‌شوند. سلول‌های NK این کاهش MHC خودی را شناسایی کرده و به آن پاسخ می‌دهند. اکثر پذیرنده‌های مهاری، مولکول‌های شبه Ig می‌باشند. یک مورد استثنا، پذیرنده مهاری شبه لکتین CD94/NKG2A می‌باشد که HLA-E روی سلول‌های هدف را شناسایی می‌کند. بدلیل این که HLA-E تنها در صورت اتصال به پپتیدهای مشتق شده از HLA-A، B یا C به سطح سلول‌منتقل می‌شود، مقدار HLA-E سطح سلول به عنوان شاخص برای میزان کل بیوسنتز مولکول‌های MHC-I در سلول درنظر گرفته می‌شود. شناسایی HLA-E توسط پذیرنده CD94/NKG2A مهاری، موجب ارسال پیام‌های مهاری به سلول NK می‌گردد، بنابراین عرضه مقادیر کافی MHC-I، مانع از کشتار سلول‌های هدف می‌شود.

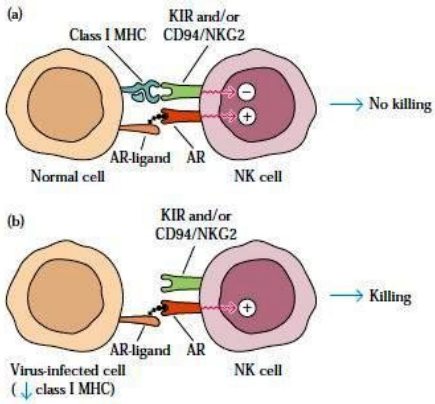
پذیرنده‌های مهاری KIR معمولاً برای یک محصول پلی مورف از جایگاه‌های HLA خاص یا برای شمار محدودی مولکول‌های وابسته به HLA، اختصاصی می‌باشند. برخلاف آنتی‌بادی‌ها در سلول‌های B و TCR در سلول‌های T، سلول‌های NK محدود به عرضه تنها یک KIR مهاری نیستند و چندین KIR که هر کدام برای مولکول‌های MHC متفاوتی اختصاصی هستند یا برای یک سری از مولکول‌های وابسته به MHC اختصاصی هستند را ممکن است عرضه کنند.

از آنجایی که پیام‌های ناشی از پذیرنده‌های مهاری می‌توانند، پیام‌های ناشی ازفعال‌سازی را خنثی کنند، یک پیام منفی از هر کدام از پذیرنده‌های مهاری می‌تواند مانع لیز سلول هدف توسط سلول‌های NKشود. بنابراین، سلول‌هایی که میزان طبیعی از مولکول‌های MHC-I را دارند، از کشته شدن با واسطه سلول‌های NK فرار می‌کنند. به طور شگفت‌انگیزی، پذیرنده‌های خانواده KIR بسیار سریع تکامل یافته‌اند، به طوری که تنها در پریمات‌ها یافت شده و درجوندگان دیده نمی‌شوند. موش‌ها از خانواده دیگری از پذیرنده‌ها

www.bbooks.ir

(خانواده شبه لکتینی Ly49) استفاده می‌کنند. پذیرنده های Ly49 کارآمد در انسان موجـود نمی‌باشند.

در مدل‌های پیام مخالف[1] در تنظیم فعالیت NK که در نتیجـه بررسـی روی سـلول‌هـای NK حاصل شده است (شکل ۱۴-۱۴).



شکل ۱۴-۱۴: مدل پیام های مخالف. یک پذیرنده سطح سلول های NK با لیگاند خود بر روی سلول های خودی تغییر یافته یا طبیعی واکنش داده و موجب فعال شدن و پیام کشتار می شود.

پذیرنده‌های فعال کننده به لیگاندهای خود روی سطح اهداف توموری، آلوده به ویـروس یا سلول‌های تحت استرس اتصال می‌یابند. شناسایی این لیگاندها بوسیله پذیرنده‌هـای فعـال کننده، پیام‌هایی را به NK مخابره می‌کنند که موجب کشتار سلول هدف می‌شوند. پیام‌هـای کشتاری می‌توانند به وسیله پیام‌های ناشی از پذیرنده‌های مهاری متوقف شـوند. ایـن رونـد مانع از مرگ سلول هدف و همچنین تکثیر و القای ترشـح سـایتوکاین‌هـایی مثـل INF-γ و TNF-α می‌شود. در مجموع، نتایج حاصل از مدل پیام مخالف،منجر بـه بقـای سـلول‌هـایی می‌شود که شاخص‌های خودی و طبیعی (مولکول‌های MHC-I) را عرضه می‌کنند و موجـب کشتار سلول‌هایی می‌شود که فاقد این شاخص‌های خودی هستند.

1-opposing signals modele

www.bbooks.ir

- سلول‌های NKT

مبحث گذشته در مورد CTL و سلول‌های NK بود. اخیراً نوع سومی از سلول‌ها شناسایی شده‌اند که خصوصیات مشابهی با هر دو سلول CTL و NK دارند. این سلول ها به دلیل ماهیت دوگانه با NKTمشخص شده که دارای مجموعه TCR روی سطح خود بوده، اما در سایر موارد با سلول‌های T اشتراک کمی‌دارند. سلول NKT به دلیل داشتن خصوصیات مشترک با پاسخ‌های ذاتی، به عنوان جزئی از سیستم ایمنی ذاتی مطرح می‌شود:

- پذیرنده سلول T موجود روی سلولNKT انسانی با زنجیره‌های TCRα و TCRβ ثابت و نامتغیر مشخص می‌شود که به ترتیب توسط قطعات ژنی Vα24-Jα18 و Vβ11 کد می‌شود. به چنین سلول‌هایی گاهی‌اوقات iNKT یا NKT نا متغیر اتلاق می‌شود.
- TCR روی سلول‌های NKT، MHC متصل به پپتید را شناسایی نمی‌کند، بلکه گلیکولیپید عرضه شده توسط مولکول غیر پلی مورف CDld را شناسایی می‌کند.
- سلول‌های NKT، سلول‌های خاطره‌ای را به وجود نمی‌آورند.
- سلول‌های NKT برخی از شاخص‌های ویژه لنفوسیت‌های T را عرضه نمی‌کنند، اما آنهایی که مربوط به سلول‌های NKهستند را عرضه می‌کنند.

نقش دقیق سلول‌های NKT هنوز شناخته نشده است. یکی از سرنخ‌ها این است که تکامل سلول‌های NKT در تیموس نیازمند یک گلیکواسفنگولیپید لیزوزومی به نام ایزوگلوبوتری هگزوزیل سرامید (iGb3) است: گلیکوزیل سرامیدهای مشابهی در گونه‌های بسیاری از باکتری‌ها حضور دارند و از آنجایی که این مولکول‌ها پاسخ سول NKT را فعال می‌کنند، ممکن است این سلول‌ها در ایمنی ضد باکتریایی نقش داشته باشند. سایر اطلاعات در مورد نقش سلول NKT در ایمنی علیه تومور حاکی از آن است که سلول‌های NKT، آنتی‌ژن‌های لیپیدی ویژه سلول‌های توموری را شناسایی می‌کنند.

www.bbooks.ir

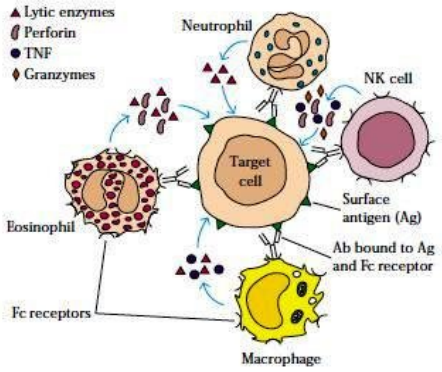
- سایتوتوکسیسیته سلولی وابسته به آنتی‌بادی

شماری از سلول‌هایی که قدرت سلول‌کشی دارند، پذیرنده‌های ناحیه Fc مولکول آنتی‌بادی را در غشای خود بارز می‌کنند. وقتی آنتی‌بادی به صورت اختصاصی به سلول هدف اتصال می‌یابد، سلول‌های دارای پذیرنده Fc به ناحیه Fc آنتی‌بادی و در نتیجه سلول هدف اتصال یافته و در نهایت موجب لیز آن می‌گردند. این نوع از سایتوتوکسیسیتی به **سایتوتوکسیسیته سلول وابسته به آنتی‌بادی**[1] **(ADCC)** اشاره دارد. سلول‌هایی که در ADCC شرکت دارند شامل سلول‌های NK، ماکروفاژها، منوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها هستند. کشتار سلول‌های هدف با واسطه ADCC از طریق مکانیسم‌های مختلف سلول‌کشی انجام می‌گیرد، اما لیز با واسطه کمپلمان شامل آن نمی‌شود (شکل ۱۵-۱۴).

زمانی که ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها یا ائوزینوفیل‌ها با واسطه پذیرنده Fc به سلول‌های هدف اتصال می‌یابند، این سلول‌ها از نظر متابولیکی فعال‌تر می‌شوند، در نتیجه میزان آنزیم‌های لیتیک در لیزوزوم‌های سیتوپلاسمی یا گرانول‌هایشان افزایش می‌یابد. رها شدن این آنزیم‌های لیتیک در محل اتصال با واسطه پذیرنده Fc منجر به تخریب سلول هدف می‌شود.

1- antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۱۴: سیتوتوکسیسیته سلولی با واسطه آنتی بادی (ADCC)

علاون برآن، منوسیت‌ها وماکروفاژهـای فعـال شـده و سـلول‌هـای NK، TNF را ترشـح می‌کنند که ممکن است روی سلول هدف اثر سایتوتوکسـیک داشـته باشـد. از آنجـایی کـه سلول‌های NK و ائوزینوفیل‌ها هـر دو در گرانـول‌هـای سیتوپلاسـمی خـود دارای پرفـورین می‌باشند، کشتار سلول‌های هدف می تواند با تخریب غشا با واسطه پرفورین انجام پذیرد.

- تشخیص آزمایشگاهی سایتوتوکسیسیته سلولی

سـه سیسـتم آزمایشـگاهی بـرای سـنجش مراحـل اجرایـی و میـزان فعالیـت پاسـخ سایتوتوکسیسیته سلولی کاملاً مفید بوده‌اند:

- **واکنش مختلط لنفوسیتی**[1] **(MLR)** جهت ستجش تکثیر سلول T_H
- لنفولیزسلولی (CML) یک سنجش آزمایشگاهی برای فعالیت اجرایی سایتوتوکسیک می‌باشد.
- واکنش پیوند علیه میزبان (GVHD) در مدل‌های حیوانی یک سیستم آزمایشگاهی برای بررسی سیتوتوکسیسیته سلولی می‌باشد.

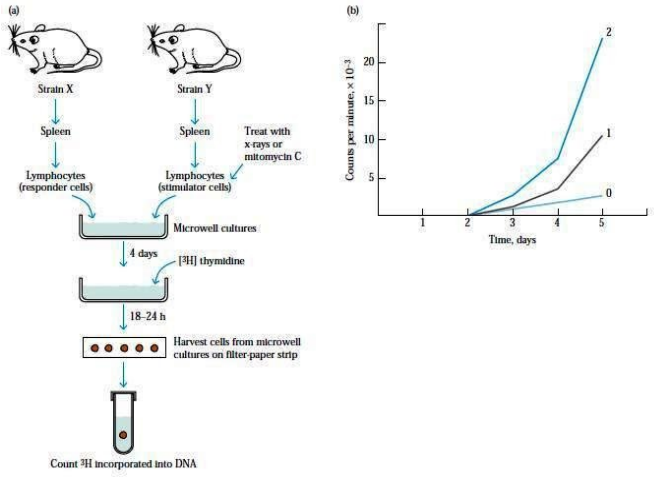
1-mixed lymphoeyte reaction

www.bbooks.ir

- کشت همزمان سلول‌های Tبا سلول‌های بیگانه، MLR را تحریک می‌کند.

در سال ۱۹۶۰، در اوایل شکل‌گیری تاریخچه ایمنی سلولی مدرن، ایمونولوژیست‌ها مشاهده کردند که وقتی لنفوسیت‌های رت روی لایه تک سلولی از فیبروبلاست‌های موش کشت داده شوند، لنفوسیت‌های رت تکثیر یافته و فیبروبلاست‌ها را تخریب می‌کنند. در سال ۱۹۷۰ چندین گروه مشاهده نمودند که CTL های عملکردی می‌توانند بوسیله کشت همزمان با سلول‌های طحال آلوژنیک در سیستمی تحت عنوان MLR تولید شوند. در MLR، لنفوسیت‌های T به بلاست‌های بزرگ تغییر شکل یافته و تکثیر می‌یابند. میزان تکثیر با افزودن تیمیدین –[^{3}H] به محیط کشت و پایش برداشت ماده نشاندار توسط DNA در تقسیمات مکرر سلولی قابل ارزیابی می‌باشد.

هر دو جمعیت لنفوسیت‌های T آلوژنیک در MLR تکثیر می‌یابند، مگر این که یکی از جمعیت‌ها در اثر تیمار با میتومایسین C یا دوزهای کشنده پرتو X غیر فعال شده باشد (شکل ۱۶-۱۴).



شکل ۱۶-۱۴: یک واکنش مختلط لنفوسیتی (MLR) یک طرفه. (a) این آزمون، تکثیر لنفوسیت های یک سویه را در پاسخ به سلول های آلوژن می سنجد. (b) میزان جذب تیمیدین [H^3] در یک MLR یک طرفه به میزان اختلاف مولکول های MHC-II سلول های پاسخ دهنده و محرک بستگی دارد.

www.bbooks.ir

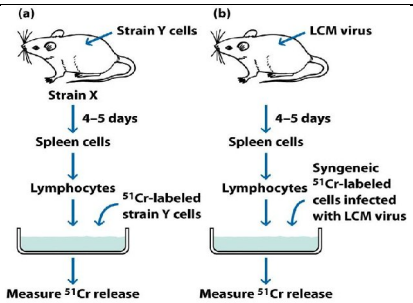
در سیستم اخیر که MLR یک طرفه نامیده می‌شود . جمعیت غیر پاسخ‌دهنده، سلول‌های تحریک کننده می‌باشند که آلوآنتی‌ژن‌های بیگانه را به سلول‌های T پاسخ دهنده عرضه می‌کنند. در طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت، سلول‌های T پاسخ دهنده، شروع به تقسیم می‌کنند و حدود ۷۲ تا ۹۶ ساعت بعد، جمعیت گسترده‌ای از CTLهای کارآمد تولید می‌شوند.

نقش مهم سلول‌های T_H در MLRیک طرفه را می‌توان با استفاده از آنتی‌بادی ضد CD4 نشان داد. در MLRیک طرفه، سلول‌های T_H پاسخ دهنده، مولکول‌های MHC-II را شناسایی کرده و در پاسخ به آنها تکثیر می‌یابند. برداشت سلول‌های T_H از جمعیت پاسخ دهند، MLR را از بین برده و مانع از تولید CTLها می‌شود. علاوه بر سلول‌های T_H، سلول‌های همراهی مثل سلول‌های دندریتیک نیز برای انجام فرآیند MLRضروری هستند. وقتی این سلول‌های همراه از جمعیت تحریک کننده حذف می‌شوند، پاسخ تکثیری در MLR از بین رفته و تولید CTL های عملکردی ادامه نخواهدیافت.

- فعالیت CTLرا می‌توان توسط CML نشان داد

پیدایش آزمون لنفولیز سلولی (CML) یکی از مهمترین پیشرفت‌های تجربی در درک مکانیسم کشتار سلولهای هدف توسط CTLها بود. در این آزمون سلول‌های هدف مناسب توسط کروم ۵۱ (^{51}Cr) به طور داخل سلولی نشاندار می‌شوند. وقتی CTLهای اختصاصی فعال شده به مدت ۱ تا ۴ ساعت با این سلول‌های نشاندار مجاور می‌شوند، سلول‌ها لیز شده و ^{51}Cr رها می‌شود. میزان^{51}Cr رها شده، با تعداد سلول‌های هدف لیز شده ارتباط مستقیم دارد. با استفاده از این آزمون حضور CTL های ویژه سلول‌های آلوژنیک،سلول‌های توموری، سلول‌های آلوده به ویروس و سلول‌های تغییر شکل یافته به طور شیمیایی نشان داده می‌شود (شکل ۱۷-۱۴).

www.bbooks.ir



شکل ۱۷-۱۴: آزمون لنفولیز سلولی (CML) در *in vitro*

سلول‌های T مسئول CML بوسیله حذف انتخابی زیر جمعیت‌های مختلف سلول‌Tشناسایی شده‌اند. به طور معمول، CTLها فعالیت محدود به MHC-I را از خود نشان می‌دهند، بدین معنی که آنها تنها قادر به کشتن سلول‌های هدفی هستند که آنتی‌ژن را همراه MHC-I عرضه می‌کنند. با این حال گاهی سلول‌های $CD4^{+}T$ محدود به MHC-II نیز فعالیت مشابه با CTLرا از خود نشان می‌دهند.

- واکنش GVHD شاخص برای سیتوتوکسیسیته سلولی می‌باشد

وقتی لنفوسیت‌های صلاحیت دارا ایمنی به یک گیرنده آلوژنیک که سیستم ایمنی مهار شده دارد، تزریق می‌شوند GVHD ایجاد می‌شود. از آنجایی که دهنده و گیرنده از نظر ژنتیکی همسان نیستند، لنفوسیت‌های پیوند شروع به حمله به میزبان می‌کنند. در انسان، GVHD معمولاً پس از پیوند مغز استخوان دیده می‌شود. تظاهرات بالینی GVHDشامل اسهال، جراحت پوستی، زردی، بزرگی طحال و مرگ می‌باشد.

به طور تجربی واکنش‌های GVHD زمانی ایجاد می‌گردند که لنفوسیت‌های صلاحیت دارا ایمنی به نوزاد حیوان یا حیوانات آلوژنیکی که تحت پرتو x قرار گرفته‌اند، انتقال داده شوند. گیرنده‌ها اغلب کاهش وزن پیدا می‌کنند. لنفوسیت‌های پیوندی معمولاً به شماری از اعضا مانند طحال منتقل می‌شوند و تکثیر آنها موجب حمله به سلول‌های میزبان گردیده و طحال

www.bbooks.ir

به طور قابل توجهی بزرگ می‌شود. شدت واکنش GVHD را بوسیله محاسبه اندیکس طحال می‌توان ارزیابی کرد.

$$\text{اندیکس طحال} = \frac{\text{وزن کل بدن به وزن طحال مورد آزمایش}}{\text{وزن کل بدن به وزن طحال کنترل}}$$

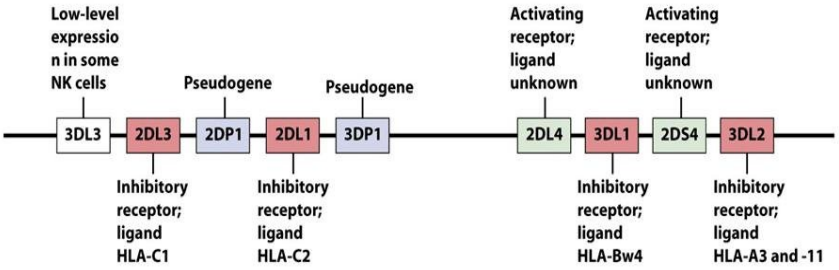
اندیکس طحال ۱/۳ و بالاتر، نشانه مثبت بودن GVHD است. بزرگی طحال در نتیجه تکثیر هر دو نوع جمعیت سلول‌های $CD4^+T$ و $CD8^+$ است و این سلول‌ها ممکن است در برخی جراحات پوستی در تخریب دیواره روده دخیل باشند.

- تمرکز بالینی

- ترکیبات ژنی MHC – KIR و تأثیر آن روی سلامت

سلول‌های NK یکی از مهم‌ترین اجزای ایمنی ذاتی می‌باشند: این سلول‌ها، سلول‌های توموری، آلوده به ویروس و تغییر شکل یافته را از بین می‌برند. به علاوه، NKهای فعال شده سایتوکاین‌هایی را تولید می‌کنند که در تقویت پاسخ ایمنی اکتسابی مؤثر می‌باشند. سلول NK از طریق دو نوع پذیرنده، اعمال خود را انجام می‌دهند: پذیرنده‌های فعال‌ساز که در صورت شناخت سلول‌های ناهنجار، فرآیند کشتار را آغاز می‌کنند و پذیرنده‌های مهاری که با شناخت MHC-I خودی، فرآیند کشتار را مهار می‌کنند. نقص در فرآیند مهاری NK می‌تواند منجر به کشتار سلول‌های طبیعی میزبان گردد. پذیرنده‌های NK از لحاظ ساختاری در دو گروه جای می‌گیردند: پذیرنده‌های شبه لکتین و پذیرنده‌های کشندگی شبه ایمونوگلبولین (KIR) که هر دو گروه دارای پذیرنده‌های مهاری و فعال‌ساز هستند.

www.bbooks.ir



هرچند که پذیرنده‌های شبه لکتین بسیار حفاظت شده هستند، ولی پذیرنده‌های خانواده KIR گروه متنوعی از پروتئین‌ها را تشکیل می‌دهند. KIRها توسط ناحیه‌ای از کروموزوم ۱۹ انسانی کد می‌شوند. برخی از ژن‌های KIR در یک هاپلوتایپ، ۹ تا ۱۴ عضو دارند و خود ژن‌های KIR نیز پلی‌مورفیک می‌باشند. هاپلوتایپ KIR A شایع‌ترین هایلوتایپ نژاد سفید بوده و ۹ پروتئین را کد می‌کند و در این هاپلوتایپ ۲ پذیرنده فعال‌ساز و ۴ پذیرنده مهاری وجود دارد (شکل).

اگر چه لیگاندهای اکثر پذیرنده‌های فعال‌ساز هنوز کشف نشده‌اند، ولی اکثر لیگاندهای پذیرنده‌های مهاری را مولکول‌های MHC-I تشکیل می‌دهند. از آنجایی که ژن‌های KIR و ژن‌های MHC، مستقل از هم می‌باشند، آیا برخی از ترکیبات ژن‌های KIR و MHC می‌توانند منجر به فقدان لیگاندهای مهاری کد شده توسط MHC در میزبان شوند و از آن طریق منجر به نقص در مهار فعال‌کنندگی شوند؟ این احتمال در مطالعاتی بررسی گردید که ترکیبات خاصی از KIR-MHC روی ایجاد برخی بیماری‌ها تأثیر گذاشته و همچنین با برخی اختلالات تولید مثلی مثل سقط‌های مکرر خودبخودی و تشنج‌حاملگی همراه است. جدول زیر فهرستی از شایع‌ترین شرایط مربوط به ترکیبات مختلف ژنتیکی را نشان می‌دهد. توجه کنید که برخی از ترکیبات KIR-MHC موجب کاهش برخی عفونت‌ها می‌شوند.

مکانیسم‌های مرتبط با ترکیبات مختلف KIR-MHC و بیماری‌ها و مشکلات باروری، موضوعات در حال بررسی می‌باشند. برای مثال، در تحقیقات اخیر احتمال تأثیر حالات

www.bbooks.ir

خاص KIR-MHC را برروی مهار سلول‌های NK بررسی می‌کنند.ما با پی‌بردن بیشتر به مکانیسم‌های اختصاصی که توسط آنها، این خانواده ژنی بر روی سلامت انسان تأثیر می‌گذارند، می‌توانیم انتظار داشته باشیم که دلیل انتخاب طبیعی ترکیبات خاص KIR-MHC را در یابیم.

Disease associations with combinations of KIR and HLA genes

Disease	KIR	HLA	Disease progression	Proposed contribution by KIRs
AIDS	*3DS1* *3DS1* homozygous	*HLA-Bw4*^{Ile80} No *HLA-Bw4*^{Ile80}	Decreased Increased	Less inhibition More inhibition
HCV infection	*2DL3* homozygous	*HLA-C1* homozygous	Decreased	Less inhibition
Cervical neoplasia (HPV induced)	*3DS1* No *3DS1*	*HLA-C1* homozygous and no *HLA-Bw4* *HLA-C2* and/or *HLA-Bw4*	Increased Decreased	Less inhibition More inhibition
Malignant melanoma	*2DL2* and/or *2DL3*	*HLA-C1*	Increased	More inhibition
Psoriatic arthritis	*2DS1* and/or *2DS2*	*HLA-C1* homozygous or *HLA-C2* homozygous	Increased	Less inhibition
Type 1 diabetes	*2DS2*	*HLA-C1* and no *HLA-C2*, no *HLA-Bw4*	Increased	Less inhibition
Preeclampsia	*2DL1* with fewer *2DS* (mother)	*HLA-C2* (fetus)	Increased	More inhibition

SOURCE: S. Rajagopalan and E. Long, 2005, Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *Journal of Experimental Medicine* 201:1025.

- خلاصه

- بازوی سیستم ایمنی سلولی شامل دو نوع سلول اجرایی ویژه آنتی‌ژن می‌باشد: CTLها و سلول‌های T_H. در مقایسه با سلول‌های T_H و Tc دست نخورده، سلول‌های اجرایی راحت‌تر فعال شده، میزان عرضه مولکول‌های چسبان آنها بالاتر است، الگوی عبور و مرور آنها متفاوت بوده و هر دو نوع مولکول‌های اجرایی غشایی و محلول را تولید می‌کنند.
- مرحله اول پاسخ CTL، شامل فعال سازی و تمایز سلول‌های Tc می‌باشد که CTL-Pنامیده می‌شوند. جزئیات فرآیند فعال‌سازی مثل دخالت سلول‌های T_H1 هنوز شناخته شده نمی‌باشند.

www.bbooks.ir

- جمعیت $CD8^+$ های اختصاصی آنتی‌ژن می‌توانند با MHCتترامر نشاندار، شناسایی و ردیابی شوند.
- مرحله دوم پاسخ CTL شامل چندین بخش می‌باشد. شناسایی سلول هدف با واسطه TCR-MHC، جابجایی گرانول‌های سیتوپلاسمی CTL به سمت سلول‌های هدف، آزاد سازی گرانول‌ها، ایجاد منفذ در غشای سلول هدف جدایی CTL از سلول‌هدف و در نهایت مرگ سلول هدف.
- CTL ها از طریق دو مکانیسم سبب القای مرگ درسلول هدف می‌شوند: مسیر پرفورین/گرآنزیم ومسیر FasL/Fas.
- سلول‌های غیر اختصاصی متنوعی مانند سلول‌های NK، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و ماکروفاژها می‌توانند سلول‌های هدف را بکشند. بسیاری از این سلول‌ها به ناحیه Fc روی سلول هدف اتصال یافته و با رهاسازی آنزیم‌های لیتیک، پرفورین و TNFطی روندی به نام ADCC سبب از بین رفتن سلول هدف می‌شوند.
- سلول‌های NK لیز سلول‌های توموری و آلوده به ویروس را با واسطه تشکیل منافذ القا شده توسط پرفورین ومکانیسم‌های مشابه CTLها، میانجی‌گری می‌کنند.
- پذیرنده‌های سلول NK در دو گروه ساختاری شبه لکتین و شبه ایمونوگلبولین جای می گیرند. پذیرنده‌های مهاری و فعال‌ساز در هر دو گروه وجود داشته که پیام خود را از طریق ITAM (فعال‌ساز) و ITIM(مهاری) مخابره می‌کنند.
- بیان مقادیر بالایی از مولکول‌های وابسته به MHC-I روی سلول‌های طبیعی، آنها را از کشتار با واسطه سلول NK محافظت می‌کند. کشتار سلول NK بوسیله تعادل میان پیام‌های مثبت و منفی تنظیم می‌شود.
- سلول‌های NKT خصوصیات مشترکی با هر دو لنفوسیت‌های T و سلوهای NKدارند. NKTها اکثراً یک TCR نامتغیر را عرضه می‌کنند و شاخص‌های مشترک با سلول‌های NK دارند.

www.bbooks.ir

- سئوالات درسی

۱- نشان دهید کدام یک از جملات زیر درست وکدام یک نادرست می‌باشند

الف) سایتوکاین‌ها می‌توانند بازویی از سیستم ایمنی که در اثر فعالیت آن بوجود آمده‌اند را تنظیم کنند.

ب) سلول‌های NK و CTLها می‌توانند پس از واکنش با سلول‌های هدف، پرفورین ترشح کنند.

پ)فعال‌سازی CTL-Pها با واسطه آنتی‌ژن نیازمند پیام کمک تحریکی ناشی از CD28 و B7 است.

ت) CTL ها تنها از یک مکانیسم برای کشتار سلول هدف استفاده می‌کنند.

ث) اساس ایفای نقش سلول‌های T در واکنش‌های DTH ترشح سایتوکاین‌های خاص می‌باشد.

۲- شما یک آنتی‌بادی منوکلونال ویژه برای LFA-1 دارید و آزمون‌های CML از یک کلون CTLرا برای تعیین حضور یا عدم حضور این آنتی‌بادی انجام می‌دهید. ارتباط مقادیر ^{51}Cr ترشح شده در این دو آزمون را پیش بینی کنید. پاسخ خود را توضیح دهید.

۳-شما تصمیم به کشت لنفوسیت‌ها از سویه‌های نام برده شده در جدول زیر برای مشاهده واکنش MLR می‌گیرید. در هر مورد نشان دهید که انتظار دارید کدام جمعیت لنفوسیتی تکثیر یابد.

Population 1	Population 2	Proliferation
C57BL/6 (H-2^b)	CBA (H-2^k)	
C57BL/6 (H-2^b)	CBA (H-2^k) mitomycin C-treated	
C57BL/6 (H-2^b)	(CBA × C57BL/6) F_1 (H-$2^{k/b}$)	
C57BL/6 (H-2^b)	C57L (H-2^b)	

www.bbooks.ir

- در واکنش مختلط لنفوسیتی (MLR) میزان برداشت [^{3}H] اغلب برای ارزیابی تکثیر سلولی استفاده می‌شود.

الف) چه نوع سلولی در MLR تکثیر می‌یابد؟

ب) شما چگونه همسانی سلول‌های تکثیر یافته را می‌توانید اثبات کنید؟

پ) توضیح دهید که چگونه تولید IL-2 نیز می‌تواند برای ارزیابی تکثیر سلولی در MLR استفاده شود.

- کدامیک از خصوصیات زیر مربوط به سلول‌های T_H، CTLها، هر دو یا هیچ‌کدام می‌باشد.

الف) ---------- توانایی تولید IL-2

ب) ---------- توانایی تولید IFN-γ

پ) ---------- محدود به MHC-I

ت) ---------- عرضه کننده CD8

ث) ---------- برای فعال‌سازی سلول B لازم است.

ج) ---------- برای سلول‌های هدف، سایتوتوکسیک می‌باشد.

چ) ---------- سلول اصلی تکثیر شونده در MLR

ح) ---------- سلول اجرایی در CML

خ) ---------- محدود به MHC-II

د) ---------- عرضه کننده CD4

ذ) ---------- عرضه کننده CD3

ر) ---------- توسط LFA-1 به سلول هدف اتصال می‌یابد.

ز) ---------- توانایی عرضه پذیرنده IL-2 را داراست.

ژ) ---------- عرضه کننده TCRαβ

س) ---------- هدف اصلی HIV

www.bbooks.ir

ش) ---------- به تنهایی توانایی پاسخ به آنتی‌ژن‌های محلول را دارد.

ص) ---------- تولید کننده پرفورین

ض) ---------- CD40L را بر سطح خود عرضه می‌کند.

۴-موش‌های چندین سویه از دو نژاد مختلف با ویروس LCM آلوده شده و چندین روز بعد، سلول‌های طحال آنها جدا شدند. توانایی سلول‌های طحال آماده سازی شده برای لیز LCM آلوده، توسط سلول‌های هدف نشاندار شده با ^{51}Cr از سویه‌های مختلف تعیین شدند. در جدول زیر با + و – نشان دهید که آیا سلول‌های طحال سمت چپ جدول می‌توانند سبب رها شدن ^{51}Cr از سلول‌های نامبرده شده در بالای جدول شوند.

۵-توضیح دهید که چرا سلول‌های NK از یک میزبان می‌توانند انواع سلول‌های آلوده به ویروس را بکشندولی قادر به کشتن سلول‌های طبیعی میزبان نمی‌باشند.

۶-یک موش با ویروس آنفولانزا آلوده شده است. چطور ارزیابی می‌کنید که آیا این موش سلول‌های T_H و Tc اختصاصی برای آنفولانزا دارد یا خیر؟

Source of primed spleen cells	^{51}Cr release from LCM-infected target cells			
	B10.D2 (H-2^d)	B10 (H-2^b)	B10.BR (H-2^k)	(BALB/c × B10) F1 (H-$2^{b/d}$)
B10.D2 (H-2^d)				
B10 (H-2^b)				
BALB/c (H-2^d)				
BALB/c × B10 (H-$2^{b/d}$)				

۷-به موش تغییر یافته ژنتیکی زیر توجه کنید و نتایج حاصل از مراحل نشان داده شده را پیش‌بینی نمایید. موش‌های H-2^d که ژن‌های پرفورین و FasL آنها تخریب شده است با ویروس LCM ایمن شده‌اند. یک هفته پس از ایمونیزاسیون، سلول‌های T این

www.bbooks.ir

موش‌ها جدا شده و جهت بررسی توانایی سایتوکسیسیته، روی سلول‌های زیر آزمون شده‌اند.

الف) سلول‌های هدف موش‌های H-2b طبیعی آلوده به LCMV

ب) سلول‌های هدف موش‌های H-2b طبیعی

پ) سلول‌های هدف موش‌های H2b که ژن‌های پرفورین و Fas آنها تخریب شده است.

ت) سلول‌های هدف موش‌های H-2b طبیعی آلوده به LCMV

ث) سلول‌های هدف موش‌های H-2d که ژن‌های پرفورین و Fas آنها تخریب شده‌است.

۸-فرض کنید می‌خواهید میزان سلول‌های T محدود به MHC-I اختصاصی یک پپتید مشتق از gp-120 شخص آلوده به HIV را تعیین کنید. با فرض این که شما نوع HLA فرد را می‌دانید چه روشی را استفاده می‌کنید؟ و چطور این تحلیل را انجام خواهید داد؟

۹-نشان دهید که هر کدام از جملات زیر با توجه به مرگ برنامه‌ریزی شده سلول با واسطه Fas درست یا نادرست است.

الف) در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود.

ب) واکنش FasL و پذیرنده‌اش منجر به فراخوانی پروتئین‌های تطابقی در سلول هدف می‌شود.

پ) آبشار کاسپازی منجر به شکست پروتئین‌های سلول هدف می‌شود.

ت) اتصال FasL با پذیرنده، باعث تحریک برخی پروتئین‌های G می‌شود.

ث)کاسپاز ۸ می‌تواند توسط FADD یا گرآنزیم‌ها فعال شود.

ج) FasL روی سلول هدف عرضه می‌شود.

www.bbooks.ir

۱۰- سلول‌های NK مولکول‌های TCR را عرضه نمی‌کنند اما به MHC-I روی سلول هدف متصل می‌شوند.

الف) توضیح دهید که چگونه سلول‌های NK فاقد TCR، سلول‌های آلوده را شناسایی می‌کنند.

ب) چه مکانیسم‌هایی توسط NK برای کشتار سلول‌های هدف مورد استفاده قرار می‌گیرد.

پ) سلول های NK از چه سلول‌های پیش‌سازی منشاء می گیرند.

۱۱-ADCC، برای شناخت سلول هدف به آنتی‌بادی وابسته می‌باشد. در صورتی که علیه آنتی‌ژن‌های سلول طبیعی، آنتی‌بادی تولید شود، چه اتفاقی می‌افتد.

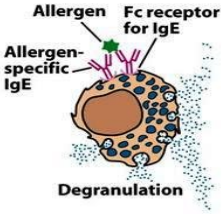
www.bbooks.ir

فصل پانزدهم

واکنش‌های ازدیاد حساسیت

- طبقه‌بندی کومبس و ژل
- ازیاد حساسیت با واسطه IgE(نوع I)
- ازدیاد حساسیت سایتوتوکسیک با واسطه آنتی‌بادی (نوع II)
- ازدیاد حساسیت با واسطه مجموعه ایمنی (نوع III)
- ازدیاد حساسیت تأخیری یا DTH(نوع IV)

www.bbooks.ir



پاسخ ایمنی با بسیج مولکول‌های اجرایی توانمند، سبب حذف آنتی‌ژن‌ها می‌شود. معمولاً، این مولکول‌های اجرایی پاسخ التهابی موضعی را القا می‌کنند که آنتی‌ژن را بدون تخریب وسیع بافت‌های میزبان، حذف می‌کنند. با این حال، تحت شرایط خاص، پاسخ التهابی می‌تواند آثار مخربی داشته باشد. چنین پاسخ‌های نامناسب و تخریب کننده‌ای تحت عنوان **ازدیاد حساسیت**[1] خوانده می‌شوند. اگر چه واژه ازدیاد حساسیت، دلالت بر افزایش پاسخ دارد ولی پاسخ ایمنی همیشه افزایش نمی‌یابد و در عوض ممکن است پاسخ نامناسب به یک آنتی‌ژن ایجاد شود.

واکنش‌های ازدیاد حساسیت ممکن است در طول پاسخ ایمنی سلولی و هومورال تولید شوند. واکنش‌های آنافیلاکسی ایجاد شده بوسیله آنتی‌بادی یا مجموعه آنتی‌ژن- آنتی‌بادی، اشاره به **ازدیاد حساسیت فوری**[2] دارد، زیرا علائم آن طی چند دقیقه یا چند ساعت پس از برخورد پذیرنده حساس شده با آنتی‌ژن، تظاهر می‌کند. **ازدیاد حساسیت تأخیری**[3] (DTH) به دلیل این که تظاهرات علائم آن چند روز پس از شناسایی آنتی‌ژن ایجاد می‌شود به این نام خوانده می‌شود. این فصل مکانیسم‌ها و نتایج حاصل از چهار نوع اصلی واکنش‌های ازدیاد حساسیت را بررسی می‌کند.

1- hypersensitivity
2- immediate hypersensitivity
3- delayed-type hypersensitivity (DTH)

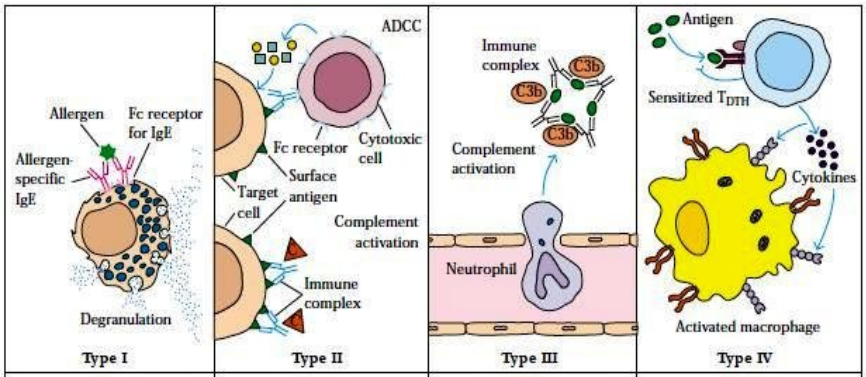
www.bbooks.ir

- طبقه‌بندی کومبس و ژل

واکنش‌های ازدیاد حساسیت را می‌توان براساس نوع پاسخ ایمنی و تفاوت میان مولکول‌های اجرایی تولید شده در خلال واکنش، از یکدیگر متمایز کرد. در واکنش‌های ازدیاد حساسیت فوری، ایزوتایپ‌های مختلف آنتی‌بادی باعث ایجاد مولکول‌های اجرایی خاصی می‌شوند. برای مثال ، IgE سبب دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها و رهاسازی هیستامین می‌گردد. برعکس،IgG , IgM با فعال‌سازی کمپلمان موجب واکنش های ازدیاد حساسیت می‌شوند. مولکول‌های اجرایی واکنش‌های کمپلمان، MAC و آنافیلاتوکسین ها می‌باشند. در واکنش‌های ازدیاد حساسیت تأخیری، مولکول‌های اجرایی، سایتوکاین‌های مختلف می‌باشند.

همان‌گونه که گفته شد، مکانیسم‌ها گوناگونی در واکنش‌های ازدیاد حساسیت دخالت دارند. کومبس و ژل، طرحی را پیشنهاد کردند که واکنش‌های ازدیاد حساسیت را به ۴ نوع تقسیم می‌کند. سه نوع از این ازدیاد حساسیت‌ها در بازوی هومورال قرار می‌گیرند: ازیاد حساسیت با واسطه IgE (نوع I)، با واسطه آنتی‌بادی (نوع II) و با واسطه مجموعه ایمنی (نوع III). نوع چهارم ازدیاد حساسیت، وابسته به فعال شدن سلوهای T بوده و در بازوی ایمنی سلولی قرار می‌گیرد که به آن ازدیاد حساسیت تأخیری یا DTH (نوع IV) می‌گویند (شکل ۱-۱۵).

www.bbooks.ir



Type I	Type II	Type III	Type IV
IgE-Mediated Hypersensitivity	IgG-Mediated Cytotoxic Hypersensitivity	Immune Complex-Mediated Hypersensitivity	Cell-Mediated Hypersensitivity
Ag induces crosslinking of IgE bound to mast cells and basophils with release of vasoactive mediators	Ab directed against cell surface antigens meditates cell destruction via complement activation or ADCC	Ag-Ab complexes deposited in various tissues induce complement activation and an ensuing inflammatory response mediated by massive infiltration of neutrophils	Sensitized T_H1 cells release cytokines that activate macrophages or T_C cells which mediate direct cellular damage
Typical manifestations include systemic anaphylaxis and localized anaphylaxis such as hay fever, asthma, hives, food allergies, and eczema	Typical manifestations include blood transfusion reactions, erythroblastosis fetalis, and autoimmune hemolytic anemia	Typical manifestations include localized Arthus reaction and generalized reactions such as serum sickness, necrotizing vasculitis, glomerulnephritis, rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus	Typical manifestations include contact dermatitis, tubercular lesions and graft rejection

شکل مروری ۱-۱۵: چهار نوع پاسخ ازدیاد حساسیت

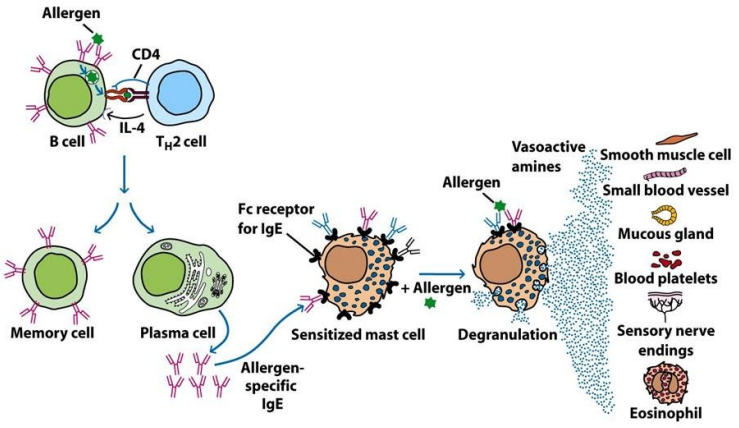
- ازدیاد حساسیت با واسطه IgE (نوع I)

واکنش ازدیاد حساسیت نوع I بوسیله نوع خاصی از آنتی‌ژن‌ها به نام آلرژن‌ها[1]، تحریک می‌شود که تمام خصوصیات یک پاسخ طبیعی هومورال را دارا می‌باشد. وضعیتی که باعث تمایز پاسخ ازدیاد حساسیت نوع I و پاسخ هومورال طبیعی می‌شود. ترشح IgE توسط پلاسماسل‌های ویژه آلرژن در ازدیاد حساسیت نوع I می‌باشد. این کلاس از آنتی‌بادی‌ها با میل پیوندی زیاد به پذیرنده Fc روی ماست‌سل‌های بافتی و بازوفیل‌های خونی اتصال می‌یابند که به این سلول‌ها حساس شده اتلاق می‌شود. مواجهه مجدد با همان آلرژن، موجب

1- allergens

www.bbooks.ir

اتصال متقاطع IgEهای اتصال یافته روی ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌های حساس شده گردیـده و باعث دگرانولاسیون[1] آنها می‌گردد (شکل ۲-۱۵). امروزه واژه آلرژی[2] به طور شایع به جای ازدیاد حساسیت نوع I به کار می‌رود.



شکل ۲-۱۵: اساس ساز و کار عمومی یک واکنش ازدیاد حساسیت نوع یک

- اجزای مشترک در واکنش‌های نوع I

شکل ۲-۱۵ اجزای مشترک ضروری برای تشکیل واکنش های ازدیاد حساسیت نوع I را به تصویر کشیده است. در ایـن بخـش ابتـدا ایـن اجـزا را توضـیح مـی‌دهـیم و در ادامـه، مکانیسم‌های دگرانولاسیون، واسطه‌های فعال‌زیستی، تظـاهرات بـالینی و روش‌هـای درمـان واکنش‌های نوع I را بیان خواهیم کرد.

- آلرژن‌ها

اکثر انسان‌ها، پاسخ IgE بالا را تنها در دفاع علیه عفونت‌های انگلی ایجاد می‌کنند. زمـانی که یک فرد در معرض یک انگل قرار می‌گیرد، سطح IgE سرمی او افزایش می‌یابد. با ایـن

1- degranulation
2- allergy

www.bbooks.ir

حال، ممکن است برخی افراد دچار آتوپی[1] (استعداد مادرزادی جهت تولید واکنش‌های ازدیاد حساسیت فوری در برابر آنتی‌ژن‌های محیطی) باشند که منجر به تولید نامناسب IgE در برخورد آنتی‌ژن‌های غیر انگلی و در نتیجه تخریب بافتی ناشی از ازدیاد حساسیت نوع I می‌گردد.

پاسخ غیر معمول IgE در افراد آتوپیک شدید و ژنتیکی بوده و در اغلب موارد، گسترش فامیلی دارد. این افراد علاوه بر IgE و ائوزینوفیل بالا، استعداد زیادی به آلرژی‌هایی مثل تب یونجه، اگزما و آسم دارند. استعداد ژنتیکی به پاسخ‌های آتوپیک، با آنالیز ارتباط ژنتیکی در چندین جایگاه، مشخص شده است. یک جایگاه، روی کروموزومλ و در ارتباط با ناحیه‌ای که سایتوکاین‌های IL-3، IL-4، IL-5، IL-9، IL-13 و GM-CSF را کد می‌کند، قرار دارد. جایگاه دیگر، روی کروموزوم ۱۱ و در ارتباط با ناحیه‌ای است که زنجیره β پذیرنده با میل پیوند بالای IgE را کد می‌کند. پاسخ IgE روی کروموزوم ۶ نیز ارتباط دارد.

اغلب پاسخ‌های آلرژیک، در پاسخ به آلرژن‌های استنشاقی یا خوراکی و در سطوح مخاطی رخ می‌دهند.

TABLE 15-1 Common allergens associated with type I hypersensitivity

Proteins	**Foods**
Foreign serum	Nuts
Vaccines	Seafood
	Eggs
Plant pollens	Peas, beans
Rye grass	Milk
Ragweed	
Timothy grass	**Insect products**
Birch trees	Bee venom
	Wasp venom
Drugs	Ant venom
Penicillin	Cockroach calyx
Sulfonamides	Dust mites
Local anesthetics	
Salicylates	**Mold spores**
	Animal hair and dander
	Latex

1- atopy

www.bbooks.ir

در جدول ۱-۱۵، فهرستی از آلرژن‌های شایع آورده شده است. شمار اندکی از آنها خالص می‌باشند که شامل گرده علف Rye و گرده راگوید، گرده علف timothy، codfish و لاتکس می‌باشند. هر کدام از این آلرژن‌ها می‌توانند یک سیستم چند آنتی‌ژنی حاوی تعدادی اجزای آلرژنی باشند. گرده راگوید (آلرژن اصلی در آمریکا) نمونه‌ای از این موارد است. گزارش شده که در هر فصل، یک مایل مربع از راگوید، ۱۶ تن گرده می‌دهد. گرده به تمام مناطق آمریکا سرایت می‌کند، ذرات گرده استنشاق می‌شوند و آنزیم‌های مخاطی، دیواره خارجی به یک فرد غیر آلرژیک تزریق کردند. تزریقات بعدی آلرژی در همان محل، سبب ایجاد تورم و سرخی می‌شود. این واکنش (واکنش P-K) در مورد یک آلرژن، منجر به فرضیه‌ای شد که آنتی‌بادی‌ها –آژمینی مسئول آن می‌باشند. آزمایشات ایئسی‌زاکا در ۱۹۶۰ اثبات نمود که فعالیت زیستی آنتی‌بادی – آژینی در آزمون P-K می‌تواند با آنتی‌سرم خرگوشی (علیه آنتی‌بادی‌های انسانی) خنثی شود، در صورتی که آنتی‌سرم اختصاصی ضد ۴ رده Ig انسانی که تا آن زمان شناخته شده بودند (IgM, IgD, IgG, IgA) فاقد این عملکرد بودند (جدول ۲-۱۵). ایشی‌زاکا این آنتی‌بادی جدید را بر مبنای آنتی‌ژن E را گوید که برای تشخیص آن به کار برده بود، IgE نامید.

TABLE 15-2 Identification of IgE based on reactivity of atopic serum in P-K test

Serum	Treatment	Allergen added	P-K reaction at skin site
Atopic	None	–	–
Atopic	None	+	+
Nonatopic	None	+	–
Atopic	Rabbit antiserum to human atopic serum*	+	–
Atopic	Rabbit antiserum to human IgM, IgG, IgA, and IgD†	+	+

*Serum from an atopic individual was injected into rabbits to produce antiserum against human atopic serum. When this antiserum was reacted with human atopic serum, it neutralized the P-K reaction.

†Serum from an atopic individual was reacted with rabbit antiserum to the known classes of human antibody (IgM, IgA, IgG, and IgD) to remove these isotypes from the atopic serum. The treated atopic serum continued to give a positive P-K reaction, indicating that a new immunoglobulin isotype was responsible for this reactivity.

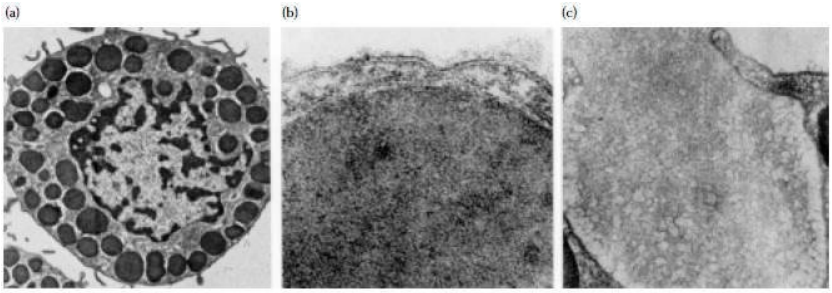
SOURCE: Based on K. Ishizaka and T. Ishizaka, 1967, *Journal of Immunology* **99**:1187.

www.bbooks.ir

سطح سرمی IgE در افراد طبیعی کمتر از تمامی ایزوتـــایپ‌هـای دیگـرو حـدود μg/ml ۰/۴-۰/۱ بوده و در افراد آتوپیک ۱۰ برابر این مقدار می‌باشد. IgE از دو زنجیره سنگین E و دو زنجیره سبک تشکیل شده و وزن مولکولی آن ۱۹۰۰۰۰ دالتون می‌باشد (شکل ۱۳-۴). با وجودی که نیمه عمر IgE در سرم تنها ۲ تا ۳ روز می‌باشد ولی IgE متصل بـه پذیرنـده خود بر روی بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها قادر است تا چندین هفته پایـدار بمانـد. حضـور IgE روی سطح ماست‌سل‌ها می‌تواند در تولید IgE در بیماری‌های آلرژیک و اتصال قوی IgE با پذیرنده خود شرکت داشته باشد.

- ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها

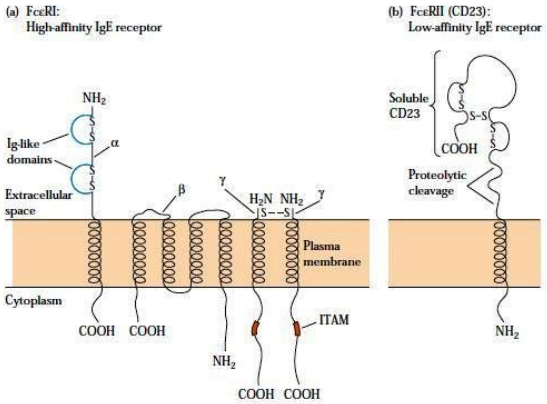
بازوفیل‌ها، گرانولوسیت‌های گردش خون بسیاری از مهره‌داران می‌باشند و در انسـان ۰/۵ تا ۱ درصد کل گلبول‌های سفید در گردش را تشکیل می‌دهند. بـرخلاف ماسـت‌سـل‌هـای بافتی، بازوفیل‌های در گردش بایستی FcεRI روی بازوفیل‌های انسانی بین ۴۰ تا ۹۰ هزار و بسیار بالاست. ائوزینوفیل‌ها، سلول‌های لانگرهانس، منوسیت‌ها و پلاکت‌ها نیز FcεRI را بـه میزان اندکی عرضه می‌کنند. FcεRI حاوی چهار زنجیره پلی‌پپتیدی می‌باشد؛ دو زنجیره α و β و دو زنجیره مشابه γ که با پیوند دی‌سولفید به یکدیگر متصل می‌باشند(شکل ۴-۱۵).



شکل ۳-۱۵: ماست سل ها (a) میکروگراف الکترونی از یک ماست سل پیش از دگرانولاسیون. (b) تماس گرانول در مجاورت غشای پلاسمایی ماست سل. (c) مرحله دگرانولاسیون.

www.bbooks.ir

یک شکل دیگر از پذیرنده که فاقد زنجیره β می‌باشد نیز در منوسیت‌ها و پلاکت‌ها حضور دارند. ناحیه خارجی زنجیره α حاوی دومن‌هایی با ۹۰ اسید آمینه می‌باشد که با ساختار Ig همسانی دارد(شکل ۲۳-۴). زنجیره‌های γبه میزان قابل توجهی در سیتوپلاسم گسترش یافته‌اند و مسئول اصلی انتقال پیام‌های داخلی سلول می‌باشند. زنجیره‌های βو γحاوی توالی‌های حفاظت شده در دومن‌های سیتوپلاسمی خود هستند که تحت عنوان ITAM شناخته می‌شوند. زنجیره βدر تشکیل مجموعه انتقال پیام شرکت می‌کند. زنجیره γ همولوگ زنجیره‌های ζ مجموعه TCR(شکل ۱۱-۱۰) و زنجیره‌های Ig-β, Ig-α همراه BCRمی‌باشد (شکل ۷-۱۱). موتیف‌های ITAM روی این پذیرنده‌ها با پروتئین کیناز جهت انتقال پیام واکنش می‌دهند. اتصال متقاطع IgEها سبب تجمع FcεRI و فسفریلاسیون سریع تیروزین‌ها می‌شود که فرآیند دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها را به راه می‌اندازد. نقش FcεRIα در آنافیلاکسی، با بررسی انجام شده روی موش‌های فاقد این زنجیره تایید شده است. این موش‌ها دارای میزان طبیعی ماست‌سل بوده ولی نسبت به آنافیلاکسی‌های موضعی و سیستمیک،مقاوم می‌باشند.



شکل ۴-۱۵: دیاگرام شماتیکی از FcεRI با میل پیوندی بالا و FcεRII با میل پیوندی پایین که به ناحیه Fc مولکول IgE متصل می شوند.

www.bbooks.ir

- پذیرنده با میل پیوندی پایین (FcεRII)

پذیرنده دیگر IgE با FcεRLI یا CD23 مشخص می‌شود (شکل ۴-۱۵). CD23 حاوی یک ناحیه غشاگذر و یک دومن لکتین نوع C در سطح خارجی سلولی می باشد. دو ایزوفرم CD23 شناسایی شده‌اند که تنها تفاوت‌های ناچیزی در دومن‌های سیتوپلاسمی انتهای آمینی خود دارند.

CD23a روی سلول‌های B فعال شده و CD23b توسط IL-4 روی انواع سلول‌ها القا می‌گردد. اتصال متقاطع IgEهای متصل به CD23 موجب فعال شدن سلول‌های B، ماکروفاژهای آلوئولار و ائوزینوفیل‌ها می‌شود. هنگامی که این پذیرنده توسط آنتی‌بادی‌های منوکلونال مهار شود، ترشح IgE از سلول‌های B کاهش می‌یابد. شکل محلول FcεRII یا SCD23 که در نتیجه هضم خودبخودی پذیرنده غشایی ایجاد می‌شود، سبب افزایش تولید IgE توسط سلول‌های B می‌گردد. افراد آتوپیک مقادیر بالایی از CD23 روی لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها و همچنین مقادیر بالایی از SCD23 دارند.

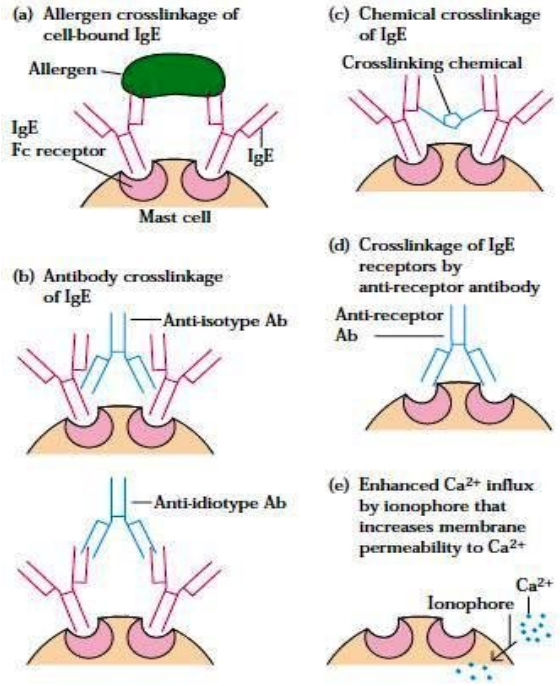
- اتصال متقاطع IgE و شروع دگرانولاسیون

وقایع بیوشیمیایی دخیل در دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌های خونی از بسیاری جهات مشابه می‌باشند. هر چند که عموماً دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها بوسیله اتصال متقاطع IgEهای غشایی با واسطه آلرژن آغاز می‌گردد، اما شماری از محرک‌های غیر وابسته به IgE مثل آنافیلاتوکسین‌ها، داروهای مختلف و حتی سایر پذیرنده‌های ماست‌سل نیز می‌توانند چنین فرآیندی را آغاز کنند.

دگرانولاسیون با واسطه IgE زمانی آغاز می‌شود که یک الرژن سبب اتصال متقاطع IgEهای غشایی ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها شود. اتصال IgE به FcεRI به تنهایی هیچ تأثیری روی سلول هدف ندارد و تنها، اتصال متقاطع می‌تواند منجر به شروع دگرانولاسیون گردد.

www.bbooks.ir

آزمایشات نشان داده‌اند که مرحله اساسی در دگرانولاسیون، اتصال متقاطع بیش از دو مولکول FcεRI می‌باشد (شکل ۵-۱۵).



شکل ۵-۱۵: دیاگرام شماتیکی از مکانیسم هایی که موجب دگرانولاسیون ماست سل ها می شوند. دقت کنید که مکانیسم های b و c به آلرژن نیاز نداشته و مکانیسم های d و e نه به آلرژن و نه به IgE نیاز ندارند. مکانیسم e حتی به اتصال متقاطع پذیرنده هم نیاز ندارد.

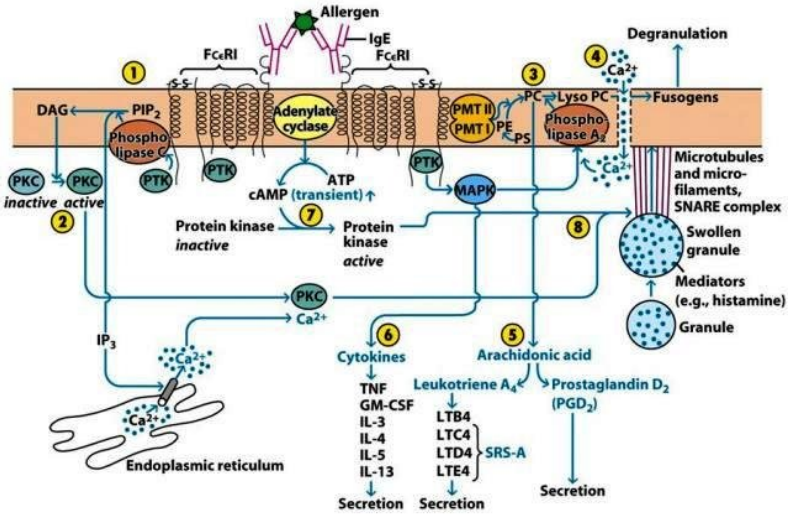
- شروع وقایع داخلی سلول و دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها

پیام‌های داخل سلولی که در نهایت منجر به دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها می‌شوند، چند جنبه داشته و شامل همکاری میان پروتئین کنیازهای گوناگون و آرایش مجدد اسکلت سلولی می‌باشد. Lyn پروتئین تیروزین کنیازی از خانواده src می‌باشد که اتصال متقاطع پذیرنده های FcεRI سبب فعال شدن آن و فسفریلاسیون تیروزین‌های ITAM در زنجیره‌های β و γ و فسفرلیپاز C می‌شود. این وقایع موجب تولید پیامبرهای ثانویه مثل IP_3

www.bbooks.ir

و DAG می‌شود که روند دگرانولاسیون را میانجی‌گری می‌کنند. IP_3 موجب افزایش ca^{2+} داخل سلولی شده و DAG همراه با ca^{2+} سبب فعال شدن پروتئین کیناز C (PKC) می‌شود. (شکل ۶-۱۵)

۱۵ ثانیه پس از اتصال متقاطع FcεRI، میتلاسیون فسفولیپیدهای غشایی سبب افزایش سیالیت غشا و تشکیل کانال‌های ca^{2+} از زخیره داخل سلولی (شکل ۷-۱۵). افزایش ca^{2+} سبب تجمع میکروتوبول‌ها و انقباض میکروفیلامان‌ها می‌شود که هر دو برای حرکت گرانول‌ها به غشاء اگزوسیتوز واسطه‌های ماست‌سل نقش دارند. به علاوه، افزایش ca^{2+} با الفای MARK منجر به تولید سایتوکاین و فعال شدن فسفولیپاز A2 (PLA2) می‌شود. PLA2 فسفولیپیدهای غشا را هیدرولیز کرده و منجر به تشکیل اسیدآراشیدونیک می‌شود(شکل ۶-۱۵).



شکل ۶-۱۵: مرور دیاگرام هایی از وقایع بیوشیمیایی در فعال شدن و دگرانولاسیون ماست سل.

اهمیت افزایش ca^{2+} در دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها با استفاده از داروهایی مثل کرومولین سدیم که مانع از ورود ca^{2+} می‌شوند، مشخص شده است.

www.bbooks.ir

- چندین عامل فارماکولوژیک واسطه واکنش نوع I می‌باشند

تظاهرات بالینی واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع I در ارتباط با آثار زیستی واسطه‌های رها شده از بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها می‌باشد. این واسطه‌ها عوامل فعال فارماکولوژیک می‌باشند که بر روی بافت‌های موضعی و سلول‌های اجرایی اثر می‌کنند. هنگام پاسخ به عفونت‌های انگلی ، این واسطه‌ها فرآیندی دفاعی مناسبی را آغاز می‌کنند که منجر به ورود پلاسما و سلول‌های التهابی جهت حمله به پاتوژن می‌باشند. به عبارت دیگر، رهاسازی واسطه‌ها توسط آلرژن‌ها منجر به افزایش غیر ضروری نفوذپذیری عروق و التهاب می‌شود که آثار مخربی دارد.

واسطه‌ها را می‌توان به دو دسته اولیه و ثانویه تقسیم کرد (جدول ۳-۱۵).

TABLE 15-3 Principal mediators involved in type I hypersensitivity

Mediator	Effects
	PRIMARY
Histamine, heparin	Increased vascular permeability; smooth muscle contraction
Serotonin (rodents)	Increased vascular permeability; smooth muscle contraction
Eosinophil chemotactic factor (ECF-A)	Eosinophil chemotaxis
Neutrophil chemotactic factor (NCF-A)	Neutrophil chemotaxis
Proteases (tryptase, chymase)	Bronchial mucus secretion; degradation of blood vessel basement membrane; generation of complement split products
	SECONDARY
Platelet-activating factor	Platelet aggregation and degranulation; contraction of pulmonary smooth muscles
Leukotrienes (slow reactive substance of anaphylaxis, SRS-A)	Increased vascular permeability; contraction of pulmonary smooth muscles
Prostaglandins	Vasodilation; contraction of pulmonary smooth muscles; platelet aggregation
Bradykinin	Increased vascular permeability; smooth muscle contraction
Cytokines	
IL-1 and TNF-α	Systemic anaphylaxis; increased expression of CAMs on venular endothelial cells
IL-4 and IL-13	Increased IgE production
IL-3, IL-5, IL-6, IL-10, TGF-β, and GM-CSF	Various effects (see Table 12-1)

واسطه های اولیه قبل از دگرانولاسیون تولید می‌شود که مهمترین آنها، هیستامین، پروتئازها، فاکتور کموتاکتیک ائوزینوفیل ، فاکتور کموتاکتیک نوتروفیل و هپارین می‌باشند.

www.bbooks.ir

واسطه‌های ثانویه پس از فعال‌شدن سلول هدف تولید می‌شوند و شامل PAF، لکوترین ها، پروستاگلاندین‌ها برادی کینین و انواع سایتوکاین‌ها و کموکایت‌ها می‌باشند.

- هیستامین

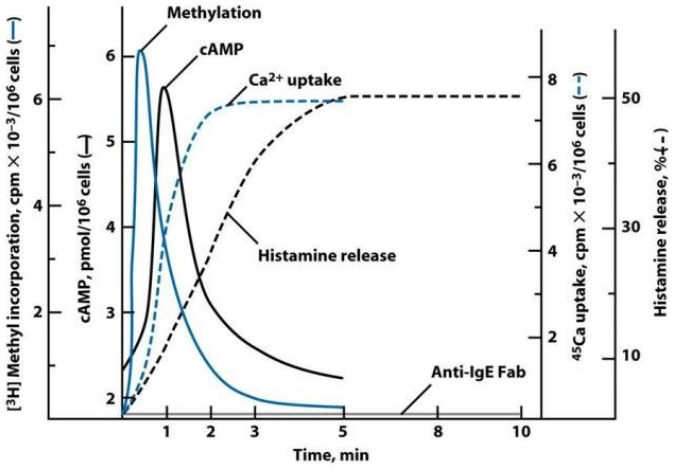
هیستامین که از دکربوکسیلاسیون اسید آمینه هیسترین تولید می‌شود و ۱۰٪ وزن گرانول‌ها را تشکیل می‌دهد. آثار زیستی آن در طی چند دقیقه پس از فعال‌شدن ماست‌سل‌ها قابل مشاهده است. تاکنون چهار نوع از پذیرنده‌های هیستامین (H4, H3, H2, H1) شناسایی شده‌اند که توزیع بافتی متفاوت و در صورت اتصال آثار متفاوتی را موجب می‌شوند. در ماست‌سل‌های جوندگان، سرتونین آثار مشابهی با هیستامین دارد.

اغلب آثار زیستی هیستامین در واکنش‌های آلرژیک،در نتیجه اتصال هیستامین به پذیرنده‌های H1 می‌باشد که موجب انقباض عضلات صاف برونش و روده، افزایش نفوذپذیری عروق و افزایش ترشح موکوس توسط سلول‌های گابلت می‌شود. واکنش هیستامین با پذیرنده‌های H2 موجب افزایش نفوذپذیری و وازودیلاتاسیون، تحریک ترشح غدد و افزایش ترشح اسید معده می‌شود. اتصال هیستامین به پذیرنده‌های H2 روی ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها، دگرانولاسیون را مهار می‌کند، بنابراین هیستامین اثر فیدبک منفی روی رهاسازی واسطه‌ها دارد.

- لکوترین‌ها و پروستاگلاندین‌ها

واسطه‌های ثانویه تا زمانی که ماست‌سل‌ها تحت دگرانولاسیون و شکست آنزیمی فسفولیپیدهای غشا قرار نگرفته‌اند، تولید نمی‌شوند (شکل ۷-۱۵).

www.bbooks.ir



شکل ۷-۱۵: کینتیک وقایع بیوشیمیایی که به دنبال اتصال متقاطع IgE سطح بازوفیل های کشت داده شده انسانی با قطعات $F(ab')_2$ آنتی بادی ضد IgE رخ می دهند.

بنابراین، آثار زیستی این واسطه‌ها مدتی طول می‌کشد تا بروز نماید. این آثار شدیدتر از آثار هیستامین می‌باشند. لکوترین‌ها سبب انبساط برونش، افزایش نفوذپذیری عروق و افزایش تولید موکوس می‌شوند. پروستاگلاندین D2 سبب انقباض برونش می‌شود.

انقباض برونش‌ها و عضلات صاف نای در ابتدا توسط هیستامین انجام می‌گیرد. اما پس از ۳۰ تا ۶۰ ثانیه، انقباض بیشتر توسط لکوترین ها و پروستاگلاندین‌ها انجام می‌شود. لکوترین‌ها در غلظت‌های نانومولار فعال بوده و تحریک کننده‌های قوی‌تری جهت افزایش نفوذپذیری عروق و ترشح موکوس می‌باشند.

- سایتوکاین‌ها

ترشح انواع سایتوکاین‌ها توسط ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها به شدت واکنش‌های نوع I می‌افزاید. ماست‌سل‌های انسان، IL-3، IL-4، IL-5، IL6، IL10، IL-13، GM-CSF و TNF-α را ترشح می‌کنند. این سایتوکاین‌ها منجر به فراخوانی سلول‌های التهابی مثل نوتروفیل‌ها و

www.bbooks.ir

ائوزیتوفیل‌ها می‌شوند. IL-4 و IL-13 پاسخ TH2 را تحریک کرده و سبب افزایش تولید IgE، توسط سلول‌های B می‌شوند. IL-5 در فراخوانی و فعال‌سازی ائوزینوفیل‌ها اهمیت دارد. مقادیر بالای INF-α در شوک ناشی از آنافیلاکسی عمومی دخالت دارد.

- واکنش‌های نوع I ، موضعی یا سیستمیک می‌باشند

تظاهرات بالینی واکنش‌های نوع I از محدوده با شرایط تهدید کننده حیات مثل آنافیلاکسی و آسم شدید تا واکنش‌های موضعی مثل تب یونجه و اگزما که تنها، آزاردهنده می‌باشند می‌تواند وجود داشته باشد.

- آنافیلاکسی سیستمیک

یک حالت شبه شوک و اغلب کشنده بوده که طی چند دقیقه و در خلال واکنش ازدیاد حساسیت نوع I رخ می‌دهد و معمولاً زمانی آغاز می‌شود که یک آلرژن، مستقیماً وارد جریان خون شده یا از روده یا پوست جذب شده باشد. آنافیلاکسی سیستمیک می‌تواند در انواع مختلف حیوانات آزمایشگاهی القا شود. هر گونه جانوری علائم به خصوص را نشان می‌دهند که به تفاوت توزیع ماست‌سل‌ها و محتوای گرانولی آنها مربوط می‌شود. یکی از مدل‌های حیوانی جهت بررسی آنافیلاکسی سیستمیک، خوکچه هندی می‌باشد.

حساس‌سازی فعال خوکچه هندی بوسیله تزریق یک پروتئین بیگانه مثل آلبومین تخم‌مرغ صورت می‌گیرد. پس از یک دوره انکوباسیون دوهفته ای، معمولاً حیوان در اثر تزریق داخل وریدی همان پروتئین، با آنتی‌ژن مواجه می‌شود. پس از یک دقیقه حیوان بی‌قرار می‌گردد، تنفس او دشوار شده و فشار خون کاهش می‌یابد. از آنجایی که عضلات صاف لوله گوارشی و مثانه منقبض می‌شوند. کنترل ادرار و مدفوع حیوان از دست می‌رود و در نهایت، انقباض برونش طی ۲ تا ۴ دقیقه پس از ترزیق ، منجر به مرگ در اثر خفگی می‌گردد.

www.bbooks.ir

آنا فیلاکسی سیستمیک در انسان، با وقایع مشابهی مشخص می‌شود. طیف وسیعی از آنتی‌ژن‌ها که سبب به راه‌افتادن این واکنش ها در فرد مستعد می‌گردند، وجود دارد. این آنتی‌ژن‌ها شامل زهر زنبور سرخ، wasp و نیش مورچه‌ها داروهایی مثل پنی‌سیلین، انسولین، آنتی‌توکسین‌ها و غذاهای دریایی و آجیل می‌باشند. در صورت عدم درمان سریع، این واکنش‌ها می‌توانند کشنده باشند. اپی‌نفرین داروی انتخابی جهت درمان واکنش‌های آنافیلاکسی می‌باشد. این دارو آثار واسطه‌هایی مانند هیستامین و کلوترین را با شل کردن عضلات صاف و کاهش نفوذپذیری عروق خنثی می‌کند. اپی‌نفرین، همچنین برون‌ده قلب را افزایش می‌دهد تا مانع از انسداد عروقی طی واکنش‌های آنافیلاکتیک شود. اپی‌نفرین با افزایش cAMP نیز از دگرانولاسیون بیشتر ماست‌سل‌ها جلوگیری می‌کند.

- واکنش‌های ازدیاد حساسیت موضعی (آتوپی)

در واکنش‌های ازدیاد حساسیت موضعی، اغلب اپی‌تلیال سطحی در محل ورود آلرژن درگیر می‌باشد. تمایل به ظهور واکنش‌های ازدیاد حساسیت موضعی، ارثی و آتوپی خوانده می‌شود. آلرژی‌های آتوپیک که حداقل ۲۰٪ جمعیت کشورهای توسعه‌یافته به آن مبتلا می‌باشند. طیف وسیعی از اختلالات با واسطه IgE مثل رینیت آلرژیک (تب یونجه)، آسم، درماتیت آتوپیک (اگزما) و آلرژی‌های غذایی را شامل می‌شود.

- رینیت آلرژیک

شایع‌ترین اختلال آتوپیک، رینیت آلرژیک می‌باشد که در نتیجه استنشاق آلرژن‌های شایع هوایی و در واکنش با ماست‌سل‌های حساس شده بافت ملتحمه و مخاط بینی رخ می‌دهد. این امر سبب رهایی واسطه‌های فعال از ماست‌سل‌ها می‌شود. سپس این واسطه‌ها موجب وازودیلاتاسیون و افزایش نفوذپذیری عروق ناحیه‌ای می‌گردند. علائم ، شامل خروج

www.bbooks.ir

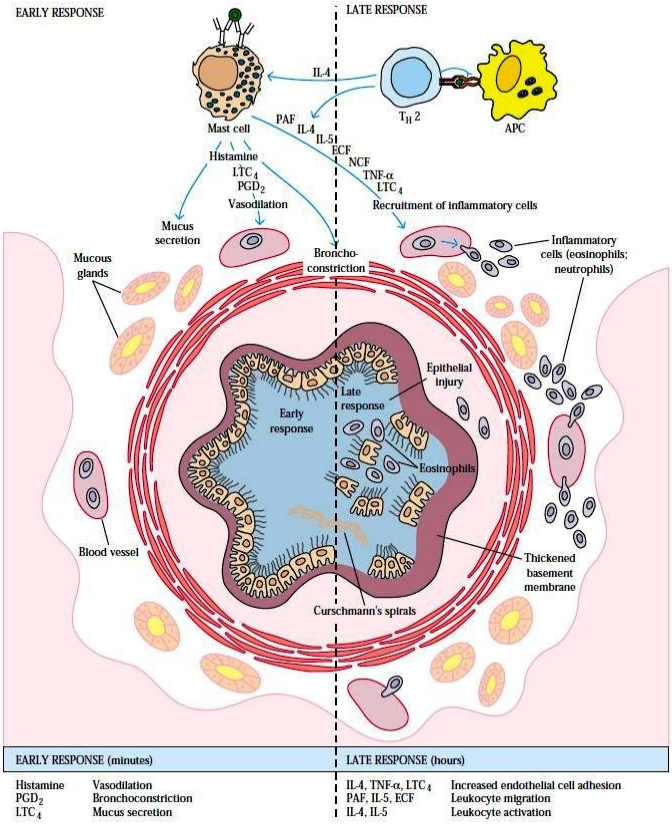
ترشحات آبکی از ملتحمه ، مخاط بینی و مجاری تنفسی فوقانی همچنین عطسه و سرفه می‌باشند.

- آسم

- در برخی موارد، آلرژن‌های هوایی یا خونی مانند گرده‌ها، غبار،دود، زهر حشرات یا آنتی‌ژن‌های ویروسی موجب بروز حملات آسم می‌شوند. در سایر موارد، حملات آسم می‌تواند بوسیله سرما القا شود که غیر وابسته به آلرژن بوده و آسم ذاتی نامیده می‌شود. مشابه تب‌یونجه، آسم نیز با واسطه دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها و رهایی واسطه‌ها شروع می‌شود اما به جای مخاط بینی یا در مجاری هوایی تحتانی ایجاد می‌گردد. انقباض عضلات صاف برونش‌ها، برونکواسپاسم را ایجاد می‌کند. ادم مجاری هوای، ترشح موکوس و التهاب در انقباض برونش و انسداد مجاری هوایی دخیل می‌باشند. اغلب متخصصین، آسم را به عنوان یک بیماری التهابی در نظر می‌گیرند. پاسخ آسم را می‌توان به دو پاسخ زودرس و دیررس تقسیم نمود (شکل ۸-۱۵).

پاسخ زودرس، طی چند دقیقه پس از برخورد با آلرژن رخ می‌دهد و عمدتاً هیستامین، لکوترین C4 و پروستاگلاندین D2 در آن دخیلند. تأثیر این واسطه‌ها منجر به برونکواسپاسم، وازودیلاتاسیون و تولید مقادیر اندکی موکوس می‌شود. پاسخ دیررسی، چند ساعت بعد رخ داده و واسطه‌های بیشتری مانند IL-4،IL-5، IL-6،TNG-α، ECF و PAF در آن دخیل می‌باشند. اثر کلی این واسطه‌ها، تحریک عرضه مولکول‌های چسبان توسط سلول‌های اندوتلیال و فراخوانی سلول‌های التهابی مانند نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها به بافت برونش است. نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها قادرند با رهاسازی آنزیم‌های توکسیک، رادیکال‌های فعال اکسیژن و سایتوکاین‌ها سبب صدمات بافتی وسیعی شوند.

www.bbooks.ir



شکل ۸-۱۵:پاسخ های التهابی اولیه و تأخیری در آسم.

- آلرژی‌های غذایی

انواع غذاها در افراد آلرژیک، واکنش‌های ازدیاد حساسیت موضعی را تحریک می‌کنند. اتصال متقاطع IgE سطح ماست‌سل‌ها در طول لوله گوارش فوقانی و تحتانی می‌تواند انقباض عضلات صاف و وازودیلاتوسیون منطقه‌ای را تحریک کرده و سبب بروز علائمی مانند اسهال یا استفراغ گردد. دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها در طول لوله گوارش می‌تواند نفوذپذیری غشای مخاطی را افزایش داده و از این طریق سبب ورود آلرژن‌ها به جریان خون شود.

www.bbooks.ir

بسته به این که آلرژن‌ها در کجا اثر کنند، علائم مختلفی می‌تواند بروز نماید. برای مثال، برخی افراد پس از خوردن بعضی غذاها دچار حملات آسم و برخی دچار کهیر می‌شوند. هنگامی‌که آلرژن غذایی با ماست‌سل‌های حساس در پوست مواجه شود، سبب ایجاد دانه‌های متورم (ادم) و قرمزی (اریتم) می‌شود که پاسخ ویل – فلیر نام دارد.

- درماتیت آتوپیک

درماتیت آتوپیک یا اگزمای آلرژیک یک بیماری التهابی پوسی است که به طور شایع با تاریخچه فامیلی آتوپی است. این بیماری به طور شایع در بچه‌های کوچک مشاهده می‌شود. مقادیر سرمی IgE، اغلب افزایش یافته و افراد آلرژیک دانه‌های پوستی قرمز رنگ داشته و اگر همراه با عفونت باکتریای باشد، دانه پراز چرک می‌شوند. برخلاف واکنش ازدیاد حساسیت تأخیری، که سلول‌های T_H1 در آن دخیلند، جراحات پوستی درماتیت آتوپیک حاوی سلول‌های T_H2 است و با افزایش ائوزینوفیل‌ها همراه است.

- واکنش‌های ویروسی و تحریک واکنش‌های التهابی موضعی

زمانی که واکنش ازدیاد حساسیت نوع I فروکش می‌کند، واسطه‌ها رها شده در طول واکنش،اغلب باعث تحریک التهاب موضعی تحت عنوان واکنش فاز دیررس ۴ تا ۶ ساعت پس از شروع واکنش نوع I به وجود آمده و به مدت ۱ تا ۲ روز باقی می‌ماند. نفوذ نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل ها، ماکروفاژها، سلول‌های T_H2 و بازوفیل‌ها از مشخصات این واکنش است. پاسخ فاز دیررس ناحیه‌ای تا حدودی با واسطه رهایی سایتوکاین ها از ماست‌سل‌ها نیز می‌باشد.

TNF-α و IL-1 عرضه مولکول‌های چسبان سلول‌های اندوتلیال عروقی را افزایش داده و سبب تسهیل تجمع نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و سلول‌های T_H2 می‌شود که از مشخصه‌های پاسخ فاز دیررس است.

www.bbooks.ir

ائوزینوفیل‌ها در واکنش‌های فاز دیررس نقش اساسی برعهده دارند. ECF که توسط ماست‌سل‌ها و در طول مراحل اولیه واکنش رها می‌شود، شمار بسیاری از ائوزینوفیل‌ها را به محل جذب می‌کند. سایتوکاین‌های مختلف رها شده در این محل، شامل IL-3 ، IL-5 و GM-CSF مسئول رشد و تمایز ائوزینوفیل‌ها می‌باشند. ائوزینوفیل‌ها پذیرنده‌های IgE و IgGرا عرضه می‌کنند که مستقیماً به آنتی‌بادی‌های پوشاننده آلرژن متصل می‌شوند و منجر به دگرانولاسیون آنها و رهایی واسطه‌های التهابی مثل لکوترین‌ها PAF،MBP ، ECP و نوروتوکسین مشتق از ائوزینوفیل می‌شود. رهایی این واسطه‌ها نقش حفاظتی مهمی در عفونت‌های انگلی دارد. نشان داده شده است که نفوذ ائوزینوفیل‌ها در پاسخ فاز دیررس،مسئول التهاب مزمن مخاط برونش (شاخص‌آسم پایدار) است.

نوتروفیل‌ها نیز از عناصر اصلی دخیل در پاسخ‌های فاز دیررس می‌باشند. نوتروفیل‌ها توسط فاکتور کموتاکتیک نوتروفیل، به محل جذب می‌شوند. به علاوه، شماری از سایتوکاین‌های رها شده در محل مانند IL-8 موجب فعال‌شدن نوتروفیل‌ها و رهایی محتوای گرانول‌های آنها می‌شوند.

- تنظیم پاسخ‌های نوع I

تاثیر دوز آنتی‌ژن در پاسخ IgE با ایمونیزاسیون موش‌های BDF1 نشان داده شده است. دوزهای اندک و تکراری یک آنتی‌ژن مناسب، سبب تحریک پاسخ پایداری IgE در این موش‌ها می‌شود، اما دوزهای بالای آنتی‌ژن منجر به تولید موقتی IgE و تغییر به سمت IgG می‌شود. همچنین روش عرضه آنتی‌ژن نیز روی پاسخ IgE تأثیر دارد. برای مثال، ایمونیزاسیون رت‌های گونه لویس با هموسیانین صدف کوهی (KLH) همراه با ژل هیدروکسید آلومینیوم یا بورد تلاپرتوسیس به عنوان ادجوانت، سبب تحریک پاسخ IgE قوی می‌شود؛ در صورتی که تزریق KLH با ادجوانت کامل فروند سبب پاسخ IgG می‌شود. نسبت زیر مجموعه‌های T_H1 و T_H2 نیز نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های ازدیاد حساسیت

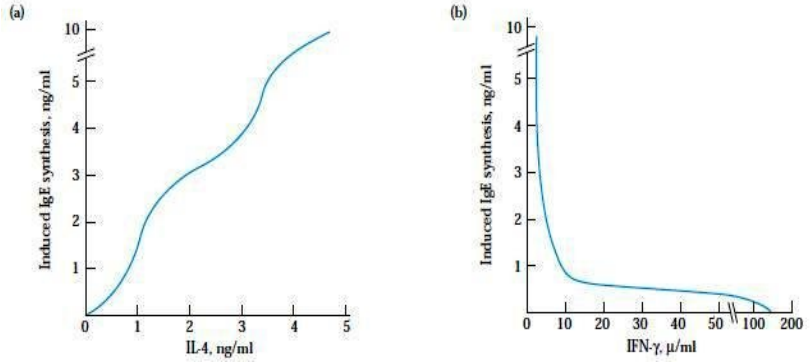
www.bbooks.ir

نوع I برعهده دارند. سلول‌های T_H1 پاسخ را کاهش و سلول‌های T_H2 افزایش می‌دهند مهمترین سایتوکاین‌های ترشح شده توسط سلول‌های T_H2 شامل IL-4،IL-5 ، IL-9 و IL-B می‌باشند. IL-4 و IL-3 تعویض رده به IgE را افزایش داده و گسترش کلونی سلول‌های B متعهد به تولید IgE را تنظیم می‌کنند. IL-4 و IL-9 تولید ماست‌سل‌ها را افزایش می‌دهندو IL-5 و IL-9 بلوغ، فعال شدن و تجمع ائوزینوفیل‌ها را سرعت می‌بخشند. در مقابل، سلول‌های T_H1،IFN-γ را تولید کرده که پاسخ نوع I را مهار می‌کند. پیشنهاد می‌شود که تعادل IFN-γ و IL-4 ممکن است در مقدار تولید T_H2 ترشح می‌شوند،نسبت فعالیت این زیرمجموعه‌ها ممکن است روی میزان پاسخ‌دهی افراد مختلف به آلرژن‌ها تأثیر بگذارد. طبق این نظر، افراد آتوپیک و غیر آتوپیک، کیفیت‌های متفاوتی از پاسخ‌های نوع I به یک آنتی‌ژن را نشان می‌دهند. پاسخ در افراد آتوپیک با واسطه زیر گروه TH2 و منجر به تولید IgE و پاسخ در افراد غیر آتوپیک با واسطه زیر گروه T_H1 و منجر به تولید IgG یا IgM خواهد شد. برای آزمون این فرضیه، سلول‌های T اختصاصی آنتی‌ژن افراد آتوپیک و غیر آتوپیک کلون شدند. سلول‌های T افراد آتوپیک غالباً از فنوتیپ T_H2 بودند در حالی که سلول‌های Tکلون شده از افراد غیر آتوپیک غالباً فنوتیپ T_H1 بودند.

- روش‌های بالینی استفاده شده برای تشخیص واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع I

ازدیاد حساسیت نوع I عموماً توسط تست‌های پوستی ارزیابی می‌شود. مقادیر اندکی از آلرژن‌های بالقوه به صورت داخل جلدی یا خراش سطحی در محل‌های خاص از پوست تزریق می‌شوند. اگر یک شخص به یک آلرژن واکنش دهد، ماست‌سل‌های موضعی دگرانوله شده و هیستامین و سایر واسطه‌ها را رها می‌کنند که باعث تورم و قرمزی در طی ۳۰ دقیقه می‌شود (شکل ۱۰-۱۵).

www.bbooks.ir



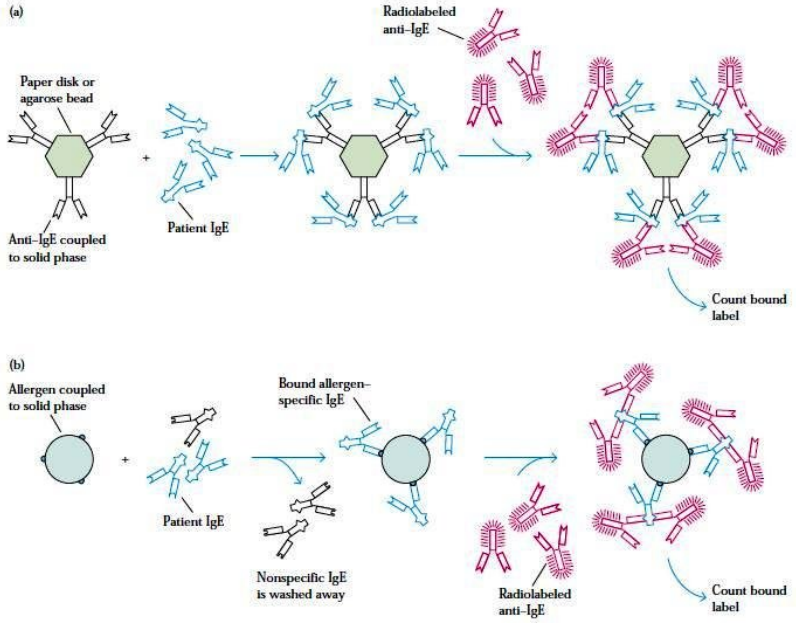
شکل ۹-۱۵: اثر IL-4 و IFN-γ بر روی تولید IgE در *in vitro*.

شکل ۱۰-۱۵: آزمون پوستی با تزریق داخل جلدی آلرژن ها به ساعد دست صورت می گیرد.

از مزایای تست پوستی، ارزان بودن و امکان ارزیابی چند آلرژن به صورت همزمان می‌باشد. از معایب تست‌های پوستی این است که در موارد نادری موجب حساس شدن افراد آلرژیک به آلرژن‌های جدید شده و در موارد بسیار نادری ممکن است سبب بروز شوک آنافیلاکسی گردد. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد،ائوزینوفیل‌ها در طی واکنش فازدیررس تجمع یافته و به رهایی محتوای گرانولی خود در تخریب بافت ناشی از واکنش فاز دیررس شرکت می‌کنند.

www.bbooks.ir

روش دیگر ارزیابی ازدیاد حساسیت نوع I، تعیین میزان تام سرمی IgE توسط آزمون RIST می‌باشد. اساس این روش بسیار حساس، سنجش ایمنی با مواد رادیواکتیو بوده که قادر به تشخیص IgE در حد نانوگرم می‌باشد. در این روش، سرم بیماران با دانه‌های آگارز یا صفحات کاغذی پوشیده شده با آنتی‌بادی خرگوش ضد IgE مجاور شده و سپس از شستشو، آنتی‌بادی خرگوش ضد IgE مجاور شده و پس از شتشو، آنتی‌بادی خرگوش ضد IgE نشاندار شده با ^{125}I اضافه می‌شود. میزان رادیواکتیو دانه ها یا صفحات با میزان IgE سرم بیماران متناسب خواهد بود(شکل ۱۱-۱۵).



شکل ۱۱-۱۵: روش های ارزیابی ازدیاد حساسیت نوع یک. (a) آزمون RIST (b) آزمون RAST

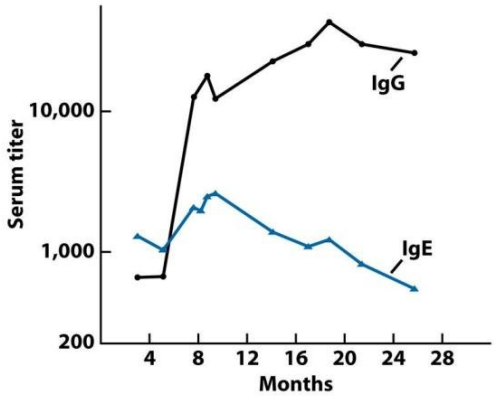
آزمون مشابهی با نام RAST جهت تعیین میزان IgE ویژه آلرژن در سرم استفاده می‌شود. آلرژن به صفحات یا دانه‌ها متصل شده است. سرم بیمار اضافه شده و

www.bbooks.ir

آنتی‌بادی‌های متصل نشده بوسیله شستشو خارج می‌شوند. میزان IgE اختصاصی متصل شده مشابه روش RIST سنجش می‌گردد (شکل ۱۱-۱۵).

- کنترل بالینی ازدیاد حساسیت نوع I

اولین اقدام در کنترل ازدیاد حساسیت نوع I ، اجتناب از برخورد با آلرژن‌های شناخته شده می‌باشد. ایمونوتراپی با تزریقات مکرر و افزایش از نظر دوز آنتی‌ژن (حساسیت زدایی) برخی اوقات برای کاهش شدت واکنش‌ها یاحتی حذف کامل آنها در برخی بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک به کار می‌رود. چنین تزریقات مکرر آلرژن موجب تغییر کلاس آنتی‌بادی به سمت IgG یا مهار سلول‌های T_H2 گردیده و در نتیجه، پاسخ IgE متوقف می‌گردد(شکل ۱۲-۵).



شکل ۱۲-۱۵: درمان کاستن حساسیت در آلرژی نوع یک.

www.bbooks.ir

در این حالت، IgG به عنوان آنتی‌بادی سرکوبگر عمل می‌کند که با IgE برای اتصال به آلرژن رقابت کرده و مجموعه‌هایی را تشکیل می‌دهد که توسط بیگانه‌خوارها برداشته می‌شوند.

نقش سلول‌های Treg در حساسیت زدایی مشخص شده است به گونه‌ای که این سلول‌ها در ممانعت از پاسخ‌های التهابی نقش بازی می‌کنند. روش‌های حساسیت‌زدایی جدید که شامل تزریق پپتیدهای مشتق از آلرژن، واکسن‌های DNA و ادجوانت می‌باشند نیز شناخته شده‌اند.

شکل دیگری از ایمونوتراپی استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد IgE می‌باشد که قادرند تنها به شکل متصل نشده به پذیرنده IgE اتصال یابند. با تزریق این آنتی‌بادی به افراد مبتلا به آلرژی، آنها به IgE آزاد اتصال یافته و موجب کاهش تنظیمی تولید IgE توسط سلول‌های B و کاهش بیان FcεRI توسط ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها می‌شوند. اومازیلوماب، اولین آنتی‌بادی ضد IgE بود که در سال ۲۰۰۳ در آمریکا جهت درمان آسم الرژیک مورد تأیید قرار گرفت.

روش دیگر درمان آلرژی‌ها بر این حقیقت استوار است که آنتی‌ژن‌های محلول در غیاب مولکول‌های کمک تحریکی تمایل به القای آنرژی در سلول‌های T دارند (شکل ۱۵-۱۰). سایر روش‌های کارآمد در مهار عملکرد سایتوکاین‌ها و پذیرنده‌های آنها و مچنین استفاده از اولیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس نیز در حال تحقیق و بررسی می‌باشند.

شناخت مکانیسم‌های دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها و واسطه‌های دخیل در واکنش‌های نوع I راهگشایی جهت درمان دارویی آلرژی‌ها خواها بود. آنتی‌هیستامین‌ها یکی از مهمترین داروها برای کاهش علائم رینیت آلرژیک می‌باشند که با اتصال به پذیرنده‌های هیستامین روی سلول‌های هدف مانع از اتصال هیستامین می‌شوند.

چندین نوع دارو، رهایی واسطه‌های آلرژیک را مهار می‌کنند (جدول ۴-۱۵).

www.bbooks.ir

TABLE 15-4 Mechanism of action of some drugs used to treat type I hypersensitivity

Drug	Action
Antihistamines	Block H_1 and H_2 receptors on target cells
Cromolyn sodium	Blocks Ca^{2+} influx into mast cells
Theophylline	Prolongs high cAMP levels in mast cells by inhibiting phosphodiesterase, which cleaves cAMP to 5′-AMP*
Epinephrine (adrenaline)	Stimulates cAMP production by binding to β-adrenergic receptors on mast cells*
Cortisone	Reduces histamine levels by blocking conversion of histidine to histamine and stimulates mast-cell production of cAMP*

*Although cAMP rises transiently during mast-cell activation, degranulation is prevented if cAMP levels remain high.

کروموگلیکات دی‌سدیم (کرومولین سدیم) مانع از ورود ca^{2+} به ماست‌سل‌ها می‌گردد. تئوفیلین سبب مهار فسفودی استراز شده و در نتیجه، افزایش پایداری سطح cAMP موجب مهار دگرانولاسیون می‌شود. شماری از داروها با تحریک پذیرنده‌های β– آدرنرژیک سبب تحریک این سیستم می‌شوند.

- تمرکز بالینی

- ژنتیک آسم

تقریباً ۱۰٪ جمعیت ایالات متحده به آسم مبتلا می‌باشند. افزایش مرگ در اثر آسم، دربچه‌ها شیوع بیشتری داشته و در آمریکا، مرگ‌ومیر کودکان آفریقای – آمریکایی در اثر آسم در مراکز شهری بیشتر می‌باشد. در طی سال ۲۰۰۴ هزینه‌های درمانی آسم ایالات متحده بیش از ۱۶ میلیون دلار بوده است. آسم بیش‌تر به عنوان یک بیماری التهابی مجاری هوایی شناخته می‌شود. افراد آتوپیک استعداد بیشتری برای ظهر تحریک‌پذیری برونش و آسم دارند، اما تنها ۱۰ تا ۳۰ درصد افراد آتوپیک به آسم مبتلا می‌شوند. تخمین زده می‌شود که توزیع فامیلی فاکتور ژنتیکی آتوپی و آسم ۴۰ تا ۶۰ درصد می‌باشد هر چند که

www.bbooks.ir

عوامل محیطی نیز نقش به سزایی در آسم دارند. آسم یک بیماری ژنتیکی پیچیده است که توسط چندین ژن کنترل می‌شود.

یکی از روش‌های شناسایی ژن‌های دخیل در یک بیماری روش ژن کاندید مـی‌باشـد. در این روش پیشنهاد می‌شود که یک ژن یا خانواده‌ای از ژن‌ها در یک بیماری دخیل می‌باشند. پس از شناسایی چنین ژن‌هایی، خانواده‌های مستعد به بیمـاری را جهـت پلـی‌مورفیسـم ژن مورد نظر، بررسی می‌کنند. مقایسه اعضای خانواده‌های مبتلا و غیر مبتلا، ارتباط میان برخی آلل‌ها و بیماری ار مشخص می‌کند. یکی از مثال‌هـای جالـب درمـورد اسـتفاده از روش ژن کاندید، شناسایی ناحیه‌ای از کروموزوم ۵ است که با آسم ارتباط دارد. این ناحیه بـه دلیـل این که شامل مجموعه‌ای از ژن‌های سایتوکاین‌ها می‌باشد، مورد مطالعـه قـرار گرفـت. ایـن سـایتوکاین‌هـا شـامل IL-3، IL-4،IL-5،IL-9،IL-13 و ژن GM-CSF مـی‌باشـند. تصـور می‌شود که IL-4 یکی از ژن‌های کاندید مناسب باشد به دلیل این کـه سـبب تعـویض رده IgE می‌شود. دو آلل از IL-9 در ارتباط با آتوپی شناسـایی شـده‌انـد. اخیـراً آزمـایش‌هـای کلون‌سازی موقعیتی، سه ژن مرتبط با آسم را شناسایی کـرده‌انـد. DADM33 کـد کننـده آنزیمی در عضـلات صـاف بـرونش و PHF11 و DPP10 کـه هـر دو در تحریـک T_H1 و التهاب ناشی از IgE دخیل می‌باشند.

روش دیگر برای شناسایی ژن‌های درگیر با بیماری‌های خاص، جستجوی تصادفی ژنومیک است. در این روش، کل ژنوم برای پلی‌مورفیسم مرتبط با بیماری جستجو می‌شود. لیمپانی و همکارانش با استفاده از این روش، ارتباطی را بین آتوپی‌های خـانواده‌هـای انگلیسـی و یـک پلی‌مورفیسم روی کروموزوم ۱۱ شناسایی کردند. این ناحیه در مجاورت ژن زیر واحـد β از FcεRI می‌باشد. این ارتباط از آنجـایی چشـمگیر اسـت کـه IgE در واکـنش‌هـای ازدیـاد حساسیت نوع I دخالت دارد. مطالعات وسیع ژنوم و ژن‌های کاندید ارتباط پلی‌مورفیسم ژن زیر واحد β از FcεRI را با آتوپی و ایجاد آسم تأیید کرده‌اند.

www.bbooks.ir

- ازدیاد حساسیت سیتوتوکسیک با واسطه آنتی‌بادی (نوع II)

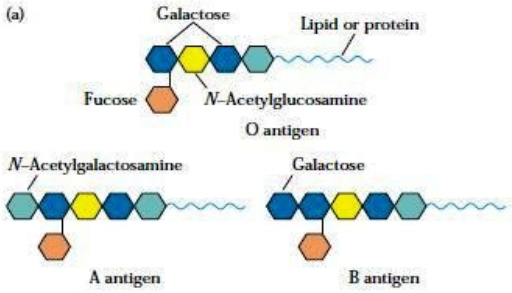
واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع II شامل تخریب سلولی با واسطه آنتی‌بادی می‌باشد. آنتی‌بادی متصل به آنتی‌ژن سطح سلول، می‌تواند سیستم کمپلمان را فعال کرده و منافذی را در غشای سلول بیگانه ایجاد نماید(شکل ۸-۷)، یا بواسطه ADCC منجر به تخریب سلول شود. در این فرآیند، سلول‌های سیتوتوکسیک با گیرنده‌های Fc خود به ناحیه Fc آنتی‌بادی‌های سطح سلول‌های هدف متصل شده و کشتار سلولی افزایش می‌یابد(شکل ۱۲-۱۴).

آنتی‌بادی متصل به سلول بیگانه همچنین می‌تواند به عنوان یک اپسونین عمل کرده و سلول‌های بیگانه‌خوار را قادر می‌سازدتا با واسطه پذیرنده‌های C3b یا Fc به سلول هدف متصل شده و آن را فاگوستیوز کند (شکل ۱۳-۷).

- واکنش‌های انتقال خون نوعی از واکنش‌های نوع II می‌باشند

شمار بسیاری از پروتئین‌های سطح سلول‌های قرمز خونی بوسیله ژن‌های مختلف کد می‌شوند و هر کدام، آلل‌های مختلفی دارند. یکی از این موارد، آنتی‌ژن‌های ABO گروه خونی می‌باشد (شکل ۱۳-۱۵).

www.bbooks.ir



(b)

Genotype	Blood-group phenotype	Antigens on erythrocytes (*agglutinins*)	Serum antibodies (*isohemagglutinins*)
AA or AO	A	A	Anti-B
BB or BO	B	B	Anti-A
AB	AB	A and B	None
OO	O	None	Anti-A and anti-B

شکل ۱۳-۱۵: گروه های خونی ABO. (a) ساختار قند های انتهایی که اپی توپ های مختلفی را در آنتی ژن‌های خونی A، B و O تشکیل می دهند. (b) ژنوتایپ ها و فنوتایپ های ABO.

آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های A، B و O ایزوهماگلوتینین نامیده می‌شوند، معمولاً از کلاس IgM می‌باشند. برای مثال، یک فرد با گروه خونی A، اپی‌توپ‌های شبه گروه B را روی میکروارگانیسم‌های گوارشی شناسایی کرده و ایزوهماگلوتینین‌های ضد B را تولید می‌کند (شکل ۱۳-۱۵). اگر به فردی با گروه خونی A ، سلول‌های فردی با گروه خونی B تزریق شود، اتصال ایزوهماگلوتینین‌های ضد B و سلول‌های B موجب لیز آنها بواسطه کمپلمان و واکنش انتقال خون می‌گردد. آنتی‌بادی‌های ضد سایر آنتی‌ژن‌های گروه خونی نیز در اثر انتقال خون مکرر، ایجاد می‌شوند؛ این آنتی‌بادی‌ها معمولاً از کلاس IgGمی‌باشند.

تظاهرات بالینی واکنش‌های انتقال خون، نتیجه همولیز داخل عروقی وسیع گلبول‌های قرمز تزریق شده می‌باشد. این تظاهرات ممکن است زودرس یا دیررس می‌باشند. واکنش‌های زودرس، اغلب با ناسازگاری گروه‌های خونی ABO همراه می‌باشند. طی چند ساعت، هموگلوبین آزاد را می‌توان در پلاسما شناسایی کرد. هموگلوبین، توسط کلیه‌ها گرفته شده و

www.bbooks.ir

دفع می‌گردد (هموگلوبینوری). علائم این واکنش‌ها معمولاً شامل تب‌و لرز، حالت تهوع، انعقاد داخل عروقی،درد ناحیه تحتانی کمر و هموگلوبینوری می‌باشد. درمان شامل قطع انتقال خون می‌باشد.

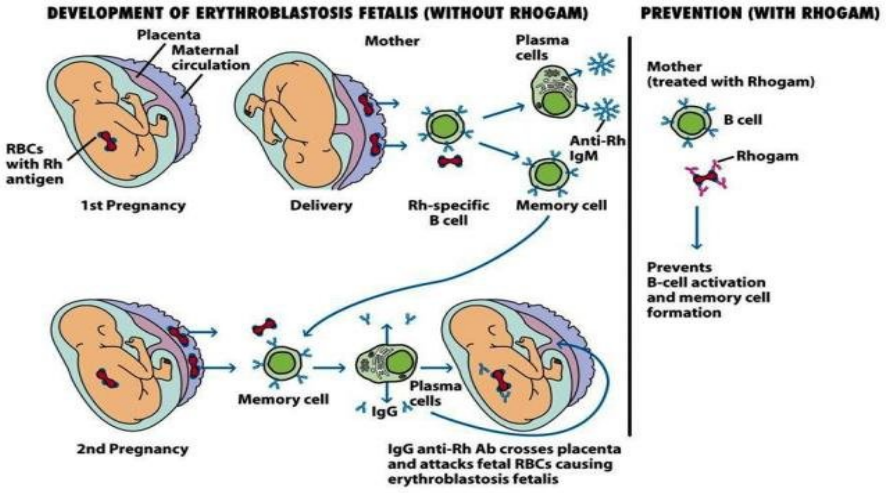
واکنش‌های همولیتیک دیررس در انتقال خون معمولاً در اشخاصی که تزریقات مکرر خون را دریافت کرده‌اند صورت می‌گیرد. واکنش‌های طی۲ تا ۶ روز پس از انتقال خون ایجاد می‌شوند. خون انتقال یافته، تولید IgGضد آنتی‌ژن‌های مختلف گروه خونی را تحریک می‌کند. شایع‌ترین این آنتی‌ژن‌ها، Rh، Kidd، Kell و Duffyمی‌باشند. ایزوتایپ غالب در این واکنش‌ها IgG بوده که تأثیر کمتری در فعال‌سازی کمپلمان نسبت به IgM دارد. به همین دلیل، لیز با واسطه کمپلمان سلول‌های قرمز، ناقص بوده و سلول‌ها در مکان‌های خارج عروقی توسط ماکروفاژها تخریب می‌شوند. علائم آن شامل تب، هموگلوبین پایین، افزایش بیلی‌روبین، یرقان خفیف و کم خونی است. در این واکنش معمولاً هموگلوبین آزاد در پلاسما یا ادرار قابل تشخیص نمی‌باشد.

- بیماری همولیتیک نوزادان

بیماری همولیتیک نوزادان (HDN) معمولاً زمانی ایجاد می‌شود که IgGهای مادری ضد گروه خونی جنین، از جفت عبور کرده و گلبول‌های قرمز جنین را تخریب کنند. نتیجه چنین انتقالی می‌تواند، خفیف، شدید یا حتی کشنده باشد. HDN (اریتروبلاستوز جنینی) به طور شایع زمانی ایجاد می‌شود که جنین، Rh^+ و مادر Rh^- باشد. در طول اولین حاملگی با یک جنین Rh^+، معمولاً مادر Rh^- در معرض گلبول‌های قرمز کافی برای فعال‌سازی سلول‌های ویژه Rh قرار نمی‌گیرد. در هنگام زایمان، جدا شدن جفت از دیواره رحم این امکان را فراهم می‌کند تا مقادیر زیادی خون بندناف جنینی، وارد گردش خون مادر شود. این سلول‌ها، سلول‌های B ویژه Rh را فعال کرده و سبب تولید پلاسماسل‌ها و سلول‌های Bخاطره‌ای ویژه Rh در مادر می‌شوند. ترشح آنتی‌بادی‌های IgM ، سلول‌های Rh^+ جنینی را از گردش خون

www.bbooks.ir

مادر پاک می‌کند ولی سلول‌های خاطره‌ای باقی می‌مانند. فعال شدن این سلول‌های خاطره‌ای در حاملگی‌های بعدی، منجر به تشکیل آنتی‌بادی IgG علیه Rh می‌شود که با عبور از جفت سبب تخریب سلول‌های جنینی می‌شوند(شکل ۱۴-۱۵).



شکل ۱۳-۱۵: گروه های خونی ABO. (a) ساختار قند های انتهایی که اپی توپ های مختلفی را در آنتی ژن های خونی A، B و O تشکیل می دهند. (b) ژنوتایپ ها و فنوتایپ های ABO.

HDN با واسطه ناسازگاری Rh را می‌توان بصورت کامل در حاملگی‌های بعدی، بوسیله تزریق آنتی‌بادی ضد Rh به مادر سرکوب نمود. این آنتی‌بادی‌ها (نام تجاری آنها روگام می‌باشد) به هر گلبول قرمز جنینی که ممکن است به گردش خون مادر وارد شده باشند، اتصال یافته و قبل از فعال شدن سلول B، آنها را پاکسازی می‌کنند.

پیشرفت HDN را می‌توان بوسیله آزمایش سرم مادر در فواصل زمانی مختلف در طول حاملگی جهت حضور آنتی‌بادی ضد Rh تعیین کرد. افزایش تیتر این آنتی‌بادی‌ها با پیشرفت حاملگی، نشان می‌دهند که مادر در معرض آنتی‌ژن‌های Rh قرار گرفته و تولید آنتی‌بادی در حال افزایش می‌باشد.

www.bbooks.ir

اگر بیماری همولیتیک ایجاد شده ناسازگای Rh، در طول حاملگی شناسایی شود، نوع درمان وابسته به شدت واکنش می باشد. برای یک واکنش شدید، جنین، تحت تعویض خون داخل رحمی قرار گرفته و گلبول‌های Rh^+ با سلول‌های Rh^- جایگزین می‌شوند. این انتقال خون، هر ۱۰ تا ۲۱ روز تا قبل از زایمان انجام می‌شود. در موارد با شدت کمتر، تعویض خون تا بعد از تولد انجام نمی‌گیرد؛ ابتدا جهت پاکسازی بیلی‌روبین، نوزاد را در معرض مقادیر اندک پرتو UV قرار می‌دهند. مادر نیز در طول حاملگی می‌تواند با پلاسمافرزیس،تحت درمان قرار گیرد.

در اکثر موارد (۶۵٪)، HDN پیامدهای خفیفی داشته و دلیل آن ناسازگاری ABO مادر و جنین می‌باشد. معمول‌ترین واکنش، بین مادر با گروه O و جنین با گروه A یا B می‌باشد. مادر با گروه O، آنتی‌بادی IgG ضد آنتی‌ژن‌های گروه A یا B را به طور طبیعی یا در خلال برخورد با این آنتی‌ژن‌ها در طی حاملگی‌های پیشین تولید می‌کند. معمولاً آنمی جنین در نتیجه این ناسازگاری خفیف می‌باشد. تظاهر بالینی اصلی شامل افزایش خفیف بیلی‌روبین می‌باشد و بسته به شدت آنمی‌و زردی، تعویض خون در این نوزادان ضروری است. به طور معمول واکنش، خفیف بوده و یک پرتو UV با میزان اندک، برای شکست بیلی‌روبین و ممانعت از آسیب‌مغزی، کافی می‌باشد.

- آنمی‌همولیتیک دارویی در اثر پاسخ نوع II

برخی آنتی‌بیوتیک‌ها (مانند پنی‌سیلین، سفالوسپورین و استرپتومایسین) می‌توانند به صورت غیر اختصاصی به پروتئین‌های غشای گلبول‌های قرمز متصل شده و مجموعه‌هایی شبیه هاپتن – حامل ایجاد کنند. در برخی بیماری‌ها، این مجموعه‌ها، تولید آنتی‌بادی را تحریک کرده، آنتی‌بادی به داروی سطح گلبول قرمز متصل شده و سبب لیز با واسطه کمپلمان و آنمی وسیع می‌شود. با قطع دارو، آنمی‌هولیتیک، فروکش می‌کند. پنی‌سیلین می‌تواند هر چهار نوع ازدیاد حساسیت را تحریک نماید (جدول ۵-۱۵).

www.bbooks.ir

TABLE 15-5 Penicillin-induced hypersensitive reactions

Type of reaction	Antibody or lymphocytes induced	Clinical manifestations
I	IgE	Urticaria, systemic anaphylaxis
II	IgM, IgG	Hemolytic anemia
III	IgG	Serum sickness, glomerulonephritis
IV	T_{DTH} cells	Contact dermatitis

- ازدیاد حساسیت با واسطه مجموعه ایمنی (نوع III)

واکنش آنتی‌ژن با آنتی‌بادی، مجموعه‌های ایمنی را به وجود می‌آورند. معمولاً این مجموعه‌های آنتی‌ژن- آنتی‌بادی توسط سلول‌های بیگانه‌خوار و سلول‌های قرمز ، پاکسازی می‌شوند (شکل ۱۵-۷). با این حال، در برخی موارد مقادیر بالای مجموعه‌های ایمنی می‌توانند منجر به تخریب بافت ناشی از واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع III شوند. زمانی که مجموعه، در خون تشکیل می‌شود، واکنش‌ها می‌توانند در هر منطقه‌ای که مجموعه رسوب کند، ایجاد شوند. به طور شایع، مجموعه‌ها در دیواره عروق خونی، غشای سینوویال غضروف‌ها، روی غشای پایه گلومرول‌ها و شبکه کروئیدی مغز رسوب می‌کنند.

زمانی که مجموعه ایمنی سبب فعال‌شدن مولکول‌های اجرایی سیستم کمپلمان می‌شود، واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع III ایجاد می‌شوند (شکل ۲-۷). آنافیلاتوکسین‌ها سبب دگرانولاسیون ماست‌سل‌های موضعی و افزایش نفوذپذیری عروق می‌گردند. C3a ، C5a و C5b67 برای نوتروفیل‌ها کموتاکتیک بوده و موجب تجمع مقادیر بالای این سلول‌ها در جایگاه رسوب مجموعه ایمنی می‌شوند. مجموعه‌های ایمنی بزرگ‌تر بر روی غشای پایه عروق خونی یا گلومرول‌های کلیه رسوب می‌کنند، در صورتی که مجموعه‌های کوچک‌تر قادرند از میان غشای پایه بگذرند و در اپی‌تلیال زیرین رسوب نمایند.

www.bbooks.ir

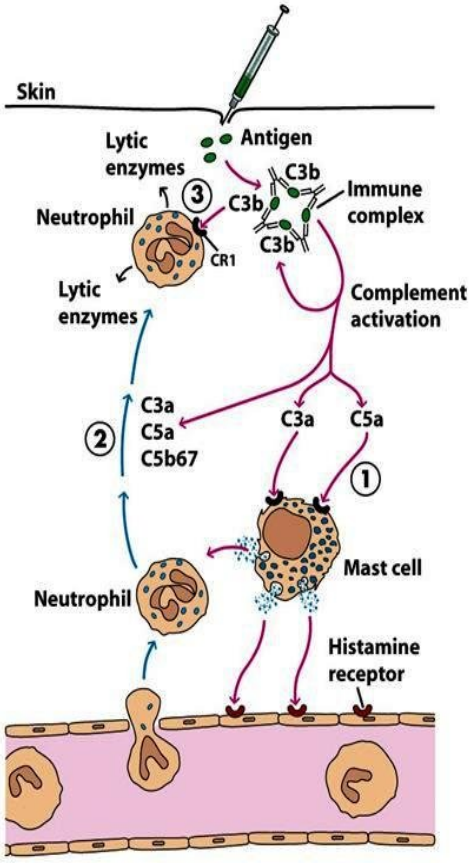
اتصال مجموعه‌های ایمنی به پذیرنده‌های Fc و کمپلمان سطح لکوسیت‌ها، منجر به فعال شدن پاسخ‌های التهابی می‌گردد. علت بیشتر تخریب‌های بافتی، رهایی آنزیم‌های لیتیک از نوتروفیل‌هایی است که قصد بیگانه‌خواری مجموعه‌های ایمنی را دارند.

تزریق آنتی‌ژن به صورت داخل جلدی یا زیر جلدی به حیوانی که سطوح بالای از آنتی‌بادی ویژه آنتی‌ژن را دارد. منجر به تشکیل مجموعه‌های ایمنی موضعی می‌شود که در طی ۴ تا ۸ ساعت، واکنش حاد آرتوس را به وجود می‌آورند (شکل ۱۵-۱۵).

بررسی میکروسکوپی بافت نشان می‌دهد که نوتروفیل‌ها به اندوتلیوم عروقی چسبیده و به سمت رسوب مجموعه‌های ایمنی مهاجرت می‌کنند. زمانی که واکنش ایجاد می‌شود، تخریب عروق و بافت ناحیه‌ای به واسطه تجمع مایع (ادم) و گلبول‌های قرمز (اریتم) ایجاد می گردد. شدت واکنش می‌تواند از تورم و سرخی تا نکروز بافت، متغیر باشد.

پس از نیش حشرات، فرد حساس قادر به ایجاد واکنش نوع I موضعی و سریع می‌باشد؛ اغلب ۴ تا ۸ ساعت بعد، یک واکنش آرتوس با اریتم و ادم شدید نیز در محل ایجاد می‌شود. واکنش آرتوس داخل ریوی که توسط اسپرُ باکتری‌ها، قارچ‌ها یا پروتئین‌های خشک شده مدفوع ایجاد می گردد، می‌تواند منجر به پنومونی یا التهاب آلوئولار شود. این واکنش‌ها براساس منبع آنتی‌ژنی، نامهای مختلفی دارند. برای مثال، بیماری ریه کشاورزان پس از استنشاق اکتینومایسس ترومومفیل موجود در یونجه کپک‌زده و بیماری کبوتربازان به علت استنشاق پروتئین مشتق از مدفوع خشک شده کبوتران ایجاد می‌شوند.

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۱۵: یک واکنش موضعی آرتوس. فعال سازی کمپلمان در نتیجه مجموعه های ایمنی موجب تشکیل واسطه های کمپلمان می شود که (۱) موجب دگرانولاسیون ماست سل، (۲) جذب کموتاکتیک نوتروفیل ها، (۳) تحریک آزاد شدن آنزیم های لایتیک از نوتروفیل ها جهت بیگانه خواری مجموعه های ایمنی پوشیده با C3b می شود.

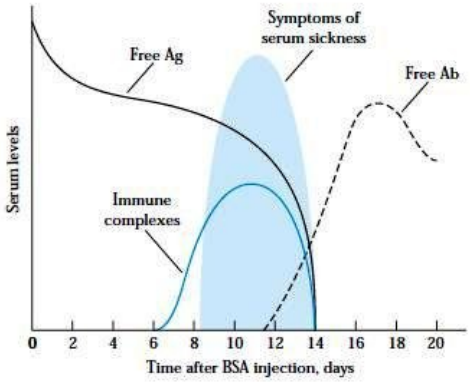
- واکنش‌های نوع III سیستمیک

زمانی که مقادیر فراوانی آنتی‌ژن وارد گردش خون شده و به آنتی‌بادی متصل می‌شوند، مجموعه‌های ایمنی در گردش تولید می‌شوند. اگر آنتی‌ژن نسبت به آنتی‌بادی بیشتر باشد،

www.bbooks.ir

مجموعه‌های ایمنی کوچک‌تر بوده و بدلیل این که به آسانی پاکسازی نمی‌شوند، می‌توانند موجب تخریب بافت ناشی از واکنش‌های نوع III در محل‌های مختلف شوند.

در برخی موارد، گیرندگان آنتی‌سرم بیگانه، آنتی‌بادی اختصاصی علیه پروتئین‌های سرم بیگانه تولید می‌کنند. این آنتی‌بادی‌ها، بعدها با آنتی‌ژن‌های سرم بیگانه تشکیل مجموعه‌های ایمنی در گردش را می‌دهند. عموماً طی چند روز یا چند هفته پس از برخورد با آنتی‌ژن‌های سرم بیگانه، شخص شروع به تظاهر ترکیبی از علایم با نام بیماری سرم می‌کند (شکل ۱۶-۱۵).



شکل۱۶-۱۵: ارتباط بین تشکیل مجموعه های ایمنی و پیشرفت علائم بیماری سرم

این علائم شامل تب، ضعف، واسکولیت منتشر همراه با ادم و اریتم، لنفادنوپاتی، آرتریت و برخی اوقات گلومرولونفریت می‌باشند.

طی‌سال‌های ۱۹۸۰، امکان استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال به عنوان گلومه‌های جادویی برای درمان سرطان و انواع بیماری‌های دیگر، شور و هیجان زیادی را به وجود آورد. با این حال، بیمارانی که آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی را دریافت کرده بودند، خودشان علیه آنتی‌بادی‌های بیگانه، آنتی بادی تولید کرده بودند و واکنشی با نام پاسخ آنتی‌بادی انسانی ضد موشی (HAMA) و علائمی شبیه بیماری سرم را نشان می‌دادند. برای اجتناب از پاسخ

www.bbooks.ir

HAMA، در حال حاضر آنتی‌بادی‌های درمانی، انسانی شده‌اند. مجموعه‌های ایمنی در پاتوژنز بیماری‌های دیگری غیر از بیماری سرم نیز شرکت دارند که شامل موارد زیر می‌باشند:

- بیماری‌های خود ایمن: لوپوس اریتماتوز سیستمیک، آرتریت روماتوئید و سندرم گودپاسچر
- واکنش‌های دارویی: آلرژی به پنی‌سیلین و سولفونامیدها
- بیماری‌های عفونی: گلومرولونفریت متعاقب عفونت استرپتوکوکی،منژیت، هپاتیت، منونوکلئوز، مالاریا و تریپانوزومیازیس

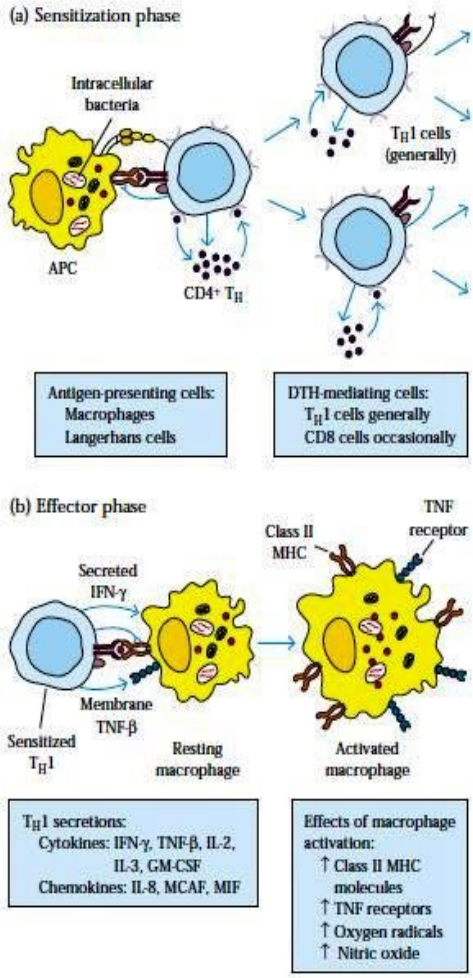
- ازدیاد حساسیت تأخیری یا DTH (نوع IV)

وقتی برخی زیر جمعیت‌های سلولی T_H فعال با نوع خاصی از آنتی‌ژن‌ها برخورد می‌کنند، سایتوکاین‌هایی را ترشح می‌کنند که سبب یک واکنش التهابی موضعی به نام DTH می‌شوند. از مشخصه‌های این واکنش، نفوذ فراوان سلول‌های التهابی غیر اختصاصی به خصوص ماکروفاژها می‌باشد. این واکنش، اولین بار در سال ۱۸۹۰ توسط رابرت کخ توصیف شد. او مشاهده کرد که افراد آلوده به مایکوباکتریوم توبرکولوزیس زمانی که در معرض تزریق داخل جلدی محلول تصفیه شده کشت مایکوباکتریوم قرار می‌گیرند، یک واکنش التهابی موضعی ایجاد می‌کنند. او این واکنش را واکنش توبرکولین نامید. بعدها مشخص شد که انواع مختلفی از آنتی‌ژن‌ها توانایی القای این پاسخ را دارند (جدول ۶-۱۵) و نام آن به ازدیاد حساسیت تأخیری یا نوع IV تغییر یافت.

www.bbooks.ir

- مراحل مختلف پاسخ DTH

ایجاد پاسخ DTH با یک فاز ابتدایی حساس شدن در ۱ تا ۲ هفته پس از مواجهه اولیه با آنتی‌ژن شروع می‌شود. در طول این مدت، سلول‌های T_H با عرضه آنتی‌ژن توسط MHC-IIروی APCهای مناسب، فعال شده و گسترش کلونی پیدا می‌کند (شکل ۱۷-۱۵).



شکل مروری ۱۷-۱۵: پاسخ DTH.

www.bbooks.ir

APCهای مختلفی مانند سلول‌های لانگرهانس و ماکروفاژها در فعال‌سازی پاسخ DTH شرکت دارند. سلول‌های لانگرهانس، آنتی‌ژن‌های وارد شده از طریق پوست را برداشته و به گره‌های لنفاوی موضعی حمل می‌کنند و در آنجا منجر به فعال شدن سلول‌های T می‌گردند. معمولاً سلول‌های T فعال شده، $CD4^+$ و زیر گروه T_H1 می‌باشند اما در موارد اندکی نیز نقش سلول‌های $CD8^+$ در القای پاسخ DTH نشان داده شده است.

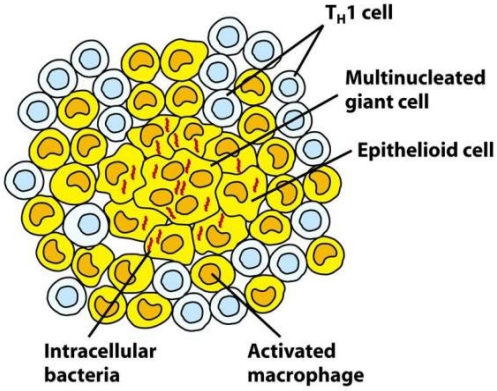
مواجهه بعدی با آنتی‌ژن، سبب تحریک فاز اجرایی پاسخ DTH می‌شود (شکل ۱۷-۱۵). در فاز اجرایی، سلول‌های T_H1 انواع مختلفی از سایتوکاین‌ها را ترشح می‌کنند که سبب فراخوانی و فعال‌شدن ماکروفاژها و سایر سلول‌های التهابی می‌شوند. پاسخ DTH معمولاً ۲۴ ساعت پس از مواجهه مجدد با آنتی‌ژن می‌باشد. تأخیر در شروع این پاسخ به دلیل زمان مورد نیاز برای القای نفوذ ماکروفاژها و فعال شدن آنها توسط سایتوکاین‌ها می‌باشد.

ماکروفاژها، سلول‌های اجرایی اصلی در پاسخ DTH هستند. سایتوکاین‌های تولید شده توسط سلول‌های T_H1، چسبندگی منوسیت‌های خونی به سلول‌های اندرتلیال عروقی و مهاجرت آنها از خون به بافت‌های اطراف را تحریک می‌کنند. در طول این مراحل، منوسیت‌ها به ماکروفاژهای فعال تمایز می‌یابند.

نفوذ و فعال‌شدن ماکروفاژها در پاسخ DTH در دفاع میزبان علیه انگل‌ها و باکتری‌های داخل سلولی بسیار با اهمیت است زیرا این عوامل بدین طریق از دسترس آنتی‌بادی‌های در گردش دور می‌مانند. فعالیت بیگانه‌خواری شدید و تولید آنزیم‌های لیتیک ماکروفاژها در ناحیه عفونت منجر به تخریب غیر اختصاصی سلول‌ها و در نتیجه، پاتوژن های داخل سلولی آنها می‌شود. معمولاً پاتوژن‌ها به سرعت و با کمترین تخریب بافتی پاکسازی می‌شوند. با این حال، در برخی موارد در صورتی که آنتی‌ژن به آسانی پاکسازی نشود، پاسخ پایدار DTH می‌تواند برای میزبان، مخرب باشد.

www.bbooks.ir

همانند پاسخ التهابی شدیدی که در واکنش‌گرانولوماتوز ایجاد می‌شود، در معرض PTH نیز فعال‌سازی پیوسته ماکروفاژ، سبب ایجاد اشکال اپی‌تلوئید و برخی اوقات الحاق ماکروفاژها و تشکیل سلول‌های غول‌آسای چند هسته‌ای می‌گردد (شکل ۱۸-۱۵).



شکل ۱۸-۱۵: پاسخ طولانی مدت DTH ممکن است منجر به تشکیل گرانولوما شود. آنزیم های لایتیک ترشح شده از ماکروفاژهای فعال در یک گرانولوما منجر به آسیب گسترده بافت می شوند.

سلول‌های غول‌آسا، جانشین سلول‌های طبیعی بافت شده و سبب تشکیل ندول‌های قابل لمس و ترشح غلظت‌های بالای آنزیم‌های لیتیک می‌گردند که به بافت‌های اطراف صدمه می‌زنند. در این موارد، پاسخ می‌تواند عروق خونی را تخریب کرده و منجر به نکروز شدید بافت شود.

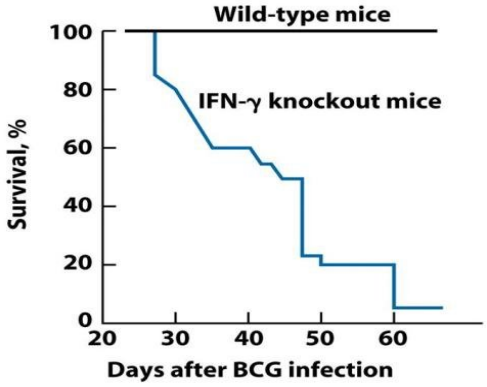
- سایتوکاین‌های دخیل در واکنش DTH

از بین سایتوکاین‌های تولید شده توسط سلول‌ها T_H1، شماری موجب جذب و فعال‌شدن ماکروفاژها می‌شوند. IL-3 و GM-CSF سبب تحریک خونسازی رده گرانولوسیت - مونوسیت می‌شوند. IFN-γ و TNF-β در مجاورت سلول‌های اندوتلیال اثر کرده و تغییراتی را القا می‌کنند که خروج منوسیت‌ها و سلول‌های التهابی را از رگ تسهیل می‌کنند.

www.bbooks.ir

در زمانی که منوسیت‌ها وارد بافت‌ها شده و به ماکروفاژها می‌شوند، به طور شیمیایی توسط کموکاین هایی مثل MCP-1 به سمت جایگاه پاسخ DTH کشیده می‌شوند. یک سایتوکاین با نام فاکتور ممانعت از مهاجرت (MIF)، از مهاجرت بیشتر ماکروفاژها به جایگاه واکنش DTH جلوگیری می‌کند. همان‌طور که ماکروفاژها در جایگاه DTH تجمع می‌یابند، بوسیله سایتوکاین‌ها فعال می‌شوند(به خصوص TNF-β غشایی و IFN-γ که توسط سلول‌های T_H1 ساخته می‌شوند).

یک گزارش از آزمایش روی موش‌های با ژن تخریب شده IFN-γ، اهمیت این سایتوکاین را در پاسخ DTH اثبات نمود. آلودگی این موش‌ها با BCG، موجب مرگ تمامی آنها طی ۶۰ روز شد، در حالی‌که، موش‌های نوع وحشی زنده ماندند(شکل ۱۹-۱۵).



شکل ۱۹-۱۵: اثبات آزمایشگاهی نقش IFN-γ در دفاع میزبان علیه پاتوژن های داخل سلولی. موش های ژن تخریب شده با ایجاد یک جهش در ژن کد کننده IFN-γ تولید می شوند. سپس این موش ها با $۱۰^{۷}$ واحد تشکیل دهنده کلونی BCG آلوده شدند و بقای آنها مورد بررسی قرار گرفت.

IL-17 سایتوکاین دیگری است که به عنوان یک واسطه قوی در واکنش‌های تأخیری عمل می‌کند IL17 توسط سلول‌هایی T_H تولید می‌شود و همانند IFN-γ سبب فراخوانی نوتروفیل‌ها و منوسیت‌ها به جایگاه التهاب می‌گردد.

www.bbooks.ir

- شناسایی واکنش DTH توسط آزمون پوستی

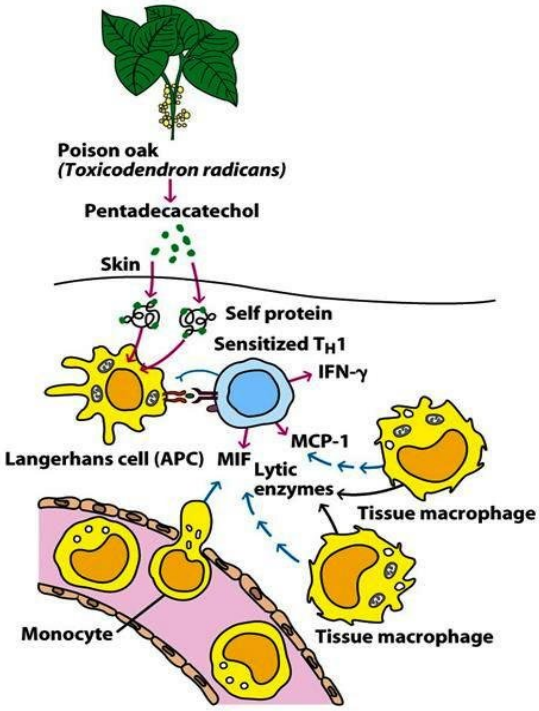
حضور واکنش DTH را می‌توان با تزریق داخل جلدی آنتی‌ژن به حیوان و مشاهده این که آیا در محل تزریق، آسیب‌پوستی ایجاد می‌شود یا خیر و به صورت تجربی مشاهده کرد. واکنش مثبت آزمون پوستی نشان دهنده وجود جمعیت حساسی از سلول‌های T_H1 می‌باشد. مثلاً برای تشخیص مواجهه شخص با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس، پروتئین بدست آمده از دیواره سلولی باکتری (PPD) به صورت داخل جلدی تزریق می‌شود. ایجاد سرخی، تورم خفیف و سفتی در طی ۴۸ تا ۷۲ ساعت در محل تزریق، نشان دهندهٔ مواجهه قبلی می باشد. آسیب پوستی به دلیل نفوذ شدید سلول‌ها به محل تزریق می‌باشد که ۸۰ تا ۹۰٪ این سلول‌ها ماکروفاژ می‌باشد. با این حال، از روی تست مثبت نمی‌توان نتیجه گرفت که شخص با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس یا واکسن برخورد داشته است.

- درماتیت تماسی نوعی از پاسخ DTH می‌باشد

بسیاری از واکنش های درماتیت تماسی، شامل پاسخ به فرمالدئید، تری‌نیتروفنل، نیکل، تورپنتین و عوامل فعال در مواد آرایشی، رنگ و مو و سم‌پیچیک بوده و توسط سلول‌های T_H1 میانجی‌گری می‌شوند. بیشتر این مواد مولکول‌های کوچکی می باشند که می‌توانند با پروتئین‌های پوست، کمپلکس تشکیل دهند.

این مجموعه‌ها توسط سلول‌های لانگرهانس، بلعیده شده و همراه با MHC-II موجب فعال‌شدن سلول‌های T_H1 حساس می‌گردند. برای مثال در واکنش سم پیچک، ترکیبی به نام پنتادکاکاتکول در برگ گیاه با پروتئین‌های پوست واکنش می دهد. برخورد سلول‌های T_H با APC عرضه کننده این مجموعه موجب حساس شدن آنها گردیده و مواجهه بعدی با پنتادکاکاتکول سبب برانگیختن فعالیت سلول‌های T_H1 و القای تولید سایتوکاین می گردد (شکل ۲۰-۱۵).

www.bbooks.ir



شکل ۲۰-۱۵: ایجاد واکنش ازدیاد حساسیت تأخیری پس از مواجهه ثانویه با پیچک سمی. سایتوکاین هایی نظیر IFN-γ، MCP-1 و MIF ترشح شده از سلول های T_H1 موجب این واکنش می شوند.

تقریباً ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از برخورد ثانویه ، ترشح سایتوکاین‌ها باعث تجمع ماکروفاژها در محل می‌شود. فعال‌شدن این ماکروفاژها و رهایی آنزیم‌های لیتیک، منجر به سرخی و تورم می‌گردد.

- خلاصه

- واکنش‌های ازدیاد حساسیت، واکنش‌های التهابی هستند که در بازوی سیستم ایمنی سلولی و هومورال قرار گرفته و سبب آسیب وسیع بافتی یا حتی مرگ میشوند. چهار

www.bbooks.ir

نوع از واکنش های ازدیاد حساسیت وجود داشته که هر کدام مولکول‌های اجرایی و تظاهرات بالینی مشخص دارند.

- واکنش‌ازدیاد حساسیت نوع I که ایمونوگلبولین از ناحیه Fc به پذیرنده‌های سطحی بازوفیل‌ها یا ماست‌سل‌ها متصل می گردد، با واسطه IgE ایجاد می‌شود. اتصال متقاطع IgE ها منجر به دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها یا بازوفیل‌ها و رهایی واسطه‌های فعال فارماکولوژیک می‌گردد. آثار اصلی این واسطه‌ها انقباض عضلات صاف و وازودیلاتاسیون می‌باشد. تظاهرات بالنینی واکنش‌های نوع I شامل آنافیلاکسی سیستمیک تهدیدکننده حیات و پاسخ‌های موضعی مانند تب یونجه و آسم می‌باشند.
- واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع II زمانی رخ می دهند که آنتی‌بادی با آنتی‌ژن‌های سطحی سلول واکنش دهد و منجر به تخریب یا مرگ سلولی به واسطه لیز با واسطه کمپلمان یا ADCC می شود. واکنش‌های انتقال خون و بیماری همولیتیک نوزادان از واکنش های نوع II می‌باشند.
- واکنش ازدیاد حساسیت نوع III با تشکیل مجموعه‌های ایمنی و در پی آن، فعال شدن کمپلمان ایجاد می شود و محصولات شکست کمپلمان به عنوان مولکول‌های اجرایی بوده که موجب وازودیلاتاسیون موضعی و جذب شیمیایی نوتروفیل‌ها می‌گردند. رسوب مجموعه‌های ایمنی در مجاورت جایگاه ورود آنتی‌ژن می‌تواند موجب واکنش آرتوس شود، واکنشی که در آن، رهایی آنزیم‌های لیتیک توسط تجمعی از نوتروفیل‌ها و مجموعه حمله به غشای کمپلمان، سبب آسیب‌بافتی موضعی می‌شود.
- واکنش ازدیاد حساسیت نوع IV با واسطه بازوی سلولی سیستم ایمنی انجام می‌گیرد. آنتی‌ژن سبب فعال‌شدن سلول‌های T_H1 حساس شده می‌گردد و رهایی سایتوکاین‌های مختلفی را تحریک می‌کند که موجب تجمع و فعال شدن ماکروفاژها می‌شوند. اثر مستقیم فعال شدن ماکروفاژها، ترشح آنزیم‌های لیتیکی است که موجب آسیب‌بافتی موضعی می‌شوند.

www.bbooks.ir

- سئوالات درسی

- سئوال تمرکز بالینی: بحث کنید که چرا IL-4 و FcεRIβ ژن‌های کاندید خوبی برای استعداد ژنتیکی به آسم در نظر گرفته می‌شوند.

۱- کدام یک از جملات زیر درست و کدام یک نادرست می‌باشد. در صورتی که فکر می‌کنید جمله‌ای نادرست است، دلیل خود را بیان کنید.

الف) IL-4 تولید IgE توسط سلول‌های B را کاهش می‌دهد

ب) مرحله ابتدایی در فرآیند دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها، اتصال متقاطع پذیرنده‌های Fc می‌باشد.

پ) آنتی‌هیستامین‌ها برای درمان ازدیاد حساسیت نوع III مؤثرند.

ت) بیشتر آلرژن‌های گروه، حاوی تنها یک ترکیب آنتی‌ژنی می‌باشند.

ث) کودکان از طریق انتقال غیر فعال آنتی‌بادی مادری می‌توانند آلرژی با واسطه IgE را کسب کنند.

ج) واکنش‌های انتقال خون، تظاهرات ازدیاد حساست نوع II می‌باشند.

چ) IgE حتی در غیاب آنتی‌ژن نیز می‌تواند به ماست‌سل اتصال یابد.

ح) ائوزینوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها هر دو در پاسخ‌های آلرژیک اهمیت دارند.

خ) پاسخ ویل – فلیر، پاسخ معمول فاز زودرس در ازدیاد حساسیت نوع I می‌باشد.

د) سیگار سبب التهاب بافت ریه می‌گردد.

ذ) جهت درمان آلرژی، بایستی پاسخ TH_2 را در افراد آلرژیک افزایش داد.

۲- شما در آزمایشگاه ایمونولوژی، در حال بررسی پاسخ موش‌ها به تزریق داخل جلدی آنتی‌بادی کامل یا با قطعه Fab ضد FcεRI می‌باشید.

الف) پاسخ مورد انتظار برای هر نوع آنتی‌بادی را پیش‌بینی کنید.

ب) آیا پاسخ مشاهده شده به آلرژیک بودن موش‌ها بستگی خواهد داشت؟ توضیح دهید.

www.bbooks.ir

۳- بیماری سرم زمانی اتفاق می‌افتد که یک فرد، دوز بالایی از آنتی‌سرم‌هایی مانند آنتی‌توکسین موشی ضد سم مار را دریافت کرده باشد. شما با استفاده از فناوری‌های پیشرفته امروزی چگونه ضد سمی خواهید ساخت که در فرد گیرنده بیماری سرم ایجاد نکند؟

۴- چه سازو کار ایمونولوژیکی مسئول ایجاد هر کدام از واکنش‌های زیر پس از زنبور گزیدگی می‌باشد؟

الف) پس از ۱ تا ۲ دقیقه، تورم و سرخی در محل گزش ایجاد شده و پس از یک ساعت از بین می‌رود.

ب) طی ۶ تا ۸ ساعت، تورم و سرخی دوباره ظاهر شده و به مدت ۲۴ ساعت باقی می‌ماند.

پ)۷۲ ساعت بعد، بافت ملتهب شده و بدنبال آن نکروزه می‌شود.

۵- کدام یک از واکنش‌های ازدیاد حساسیت برای هر کدام از توصیف‌های زیر به کار می‌رود.

الف) یک دفاع مهم علیه پاتوژن‌های داخل سلولی است.

ب) می تواند بوسیله پنی‌سیلین ایجاد شود.

پ)هیستامین یکی از واسطه‌های مهم آن می‌باشد.

ت) می‌تواند به واسطه سم پیچک در افراد حساس ایجاد شود.

ث) می‌تواند منجر به علائم آسم شود.

ج) در نتیجه انتقال خون ناسازگار ایجاد می‌شود.

چ) فرم سیستمیک واکنش می‌تواند با اپی‌نفرین درمان شود.

ح) می‌تواند بوسیله گرده‌ها یا غذاهای خاص در افراد حساس ایجاد شود.

خ) بوسیله ADCC موجب تخریب سلول می‌گردد.

د)تظاهرات بالینی که روگام مانع آن می‌شود.

www.bbooks.ir

ذ) شکل موضعی آن با وکنش ویل- فلیر مشخص می‌گردد.

۶- در جدول زیر، نشان دهید که آیا حوادث ایمونولوژیک در هر نوع پاسخ ازدیاد حساسیت اتفاق می‌افتد (+) یا نمی‌افتد(-).

Immunologic event	Hypersensitivity			
	Type I	Type II	Type III	Type IV
IgE-mediated degranulation of mast cells				
Lysis of antibody-coated blood cells by complement				
Tissue destruction in response to poison oak				
C3a- and C5a-mediated mast-cell degranulation				
Chemotaxis of neutrophils				
Chemotaxis of eosinophils				
Activation of macrophages by IFN-γ				
Deposition of antigen-antibody complexes on basement membranes of capillaries				
Sudden death due to vascular collapse (shock) shortly after injection or ingestion of antigen				

۷- واکنش ازدیاد حساسیت نوع II ایجاد شده در جنین Rh^+ و مادر Rh^- را توضیح دهید.

۸- ازدیاد حساسیت نوع III با رسوب مجموعه ایمنی مشخص می‌گردد. نتایج حاصل از رسوب مجموعه ایمنی را شرح دهید.

۹- اتصال آلرژن به IgEهای متصل به سطح ماست‌سل‌ها، منجر به اتصال متقاطع پذیرنده‌ها و به راه‌افتادن آبشار انتقال پیام و در نتیجه دگرانولاسیون می‌شود. برای هر

www.bbooks.ir

کدام از اجزای آبشار انتقال پیام (الف تا چ) وقایع سلولی ایجاد شده (۱ تا ۷) را مشخص کنید.

الف) افزایش کلسیم داخل سلولی	۱- تورم گرانول‌ها و الحاق به غشای پلاسمایی
ب) آدنیلات سیکلاز	۲- تشکیل فسفاتیدیل کولین
پ) آنزیم فسفولیپیدمیتل ترانسفر از I و II	۳- تولید DAG و IP3
ت) فسفولیپاز C	۴- فعال‌شدن پروتئین کنیاز C
ث)پروتئین تیروزین کنیاز	۵- تشکیل cAMP
ج) فسفاتیدیل کولین	۶- افزایش سیالیت غشا
چ) دی‌آسیل گلیسرول	۷- فعال شدن فسفولیپاز C

۱۰-تفاوت میان فاز زودرس و دیررس آسم را شرح دهید.

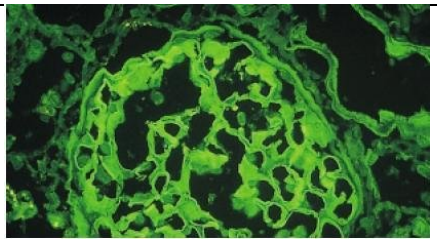
www.bbooks.ir

فصل شانزدهم

تحمل و خود ایمنی

- شکل‌گیری و حفظ تحمل
- بیماری‌های خود ایمن اختصاصی عضو
- بیماری‌های خود ایمن سیستمیک
- مدل‌های حیوانی بیماری‌های خود ایمنی
- شواهد دخالت سلول‌های $CD4^+T$ ، MHC و TCR درخود ایمنی
- مکانیسم‌های مطرح شده جهت القای خود ایمنی
- درمان بیماری‌های خود ایمن

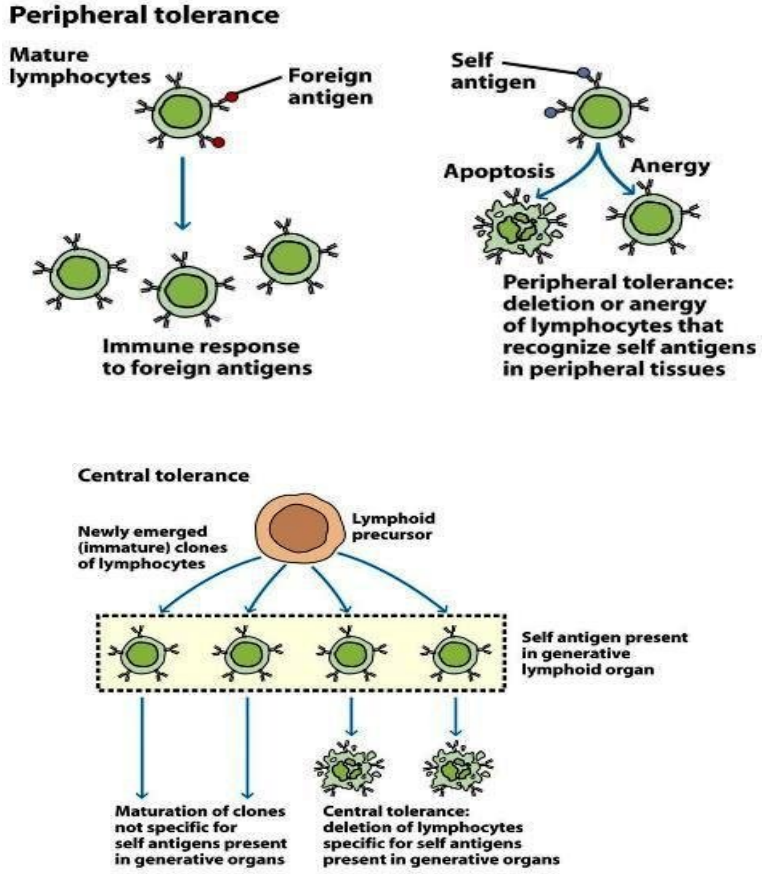
www.bbooks.ir



در اوایل قرن گذشته پاول ارلیش متوجه شد که سیستم ایمنی می‌تواند از مسیر خود منحرف شود و به جای آنکه تنها در برابر آنتی‌ژن‌های بیگانه واکنش دهد، می‌تواند به آنتی‌ژن‌های خودی نیز پاسخگو باشد. او این حالت را «سمیت وحشتناک علیه خود[1]» نامید که می‌تواند منجر به تعدادی از بیماری‌های حاد و مزمن مثل آرتریت‌روماتوئید، مولتیپل اسکلروزیس، لوپوس اریتماتوزیس و برخی از انواع دیابت گردد. به عبارتی ساده‌تر، این بیماری‌ها در اثر ناتوانی سیستم ایمنی سلولی و هومورال میزبان در افتراق خودی از غیر خودی که منجر به حمله اتوآنتی‌بادی‌ها و سلول‌های T خود واکنشگر به سلول‌ها و بافت‌های خودی می‌گردد، ایجاد می‌شوند. تعدادی از مکانیسم‌ها به منظور حفاظت در برابر لنفوسیت‌های خود واکنشگر وجود دارند که در حالت کلی به این حالت **تحمل**[2] می‌گویند. در اولین مکانیسم که **تحمل مرکزی**[3] خوانده می‌شود، کلون‌های سلول‌های B و T که پذیرنده‌هایشان، آنتی‌ژن‌های خودی را با میل ترکیبی زیاد مورد شناسایی قرار می‌دهند، قبل از بلوغ حذف می‌شوند. تحمل مرکزی در اعضای لنفاوی اولیه شامل مغز استخوان و تیموس رخ می‌دهد (شکل a۱-۱۶).

1- horror autotoxicus
2- tolerance
3- central tolerance

www.bbooks.ir



شکل ۱-۱۶: تحمل مرکزی و محیطی.

بدلیل آنکه تحمل مرکزی کامل نمی‌باشد و برخی از لنفوسیت‌های خود واکنشگر راه خود را به اعضای لنفاوی ثانویه پیدا می‌کنند، یک حفاظ اضافی جهت محدود کردن فعالیت آنها وجود دارد. این اقدام احتیاطی، **تحمل محیطی**[1] نام داشته که لنفوسیت‌های خودواکنشگر را در بافت‌های لنفاوی ثانویه غیر فعال کرده یا موجب بی‌پاسخی آنها می‌شود. امکان ایجاد

1- peripheral tolerance

www.bbooks.ir

آسیب توسط لنفوسیت‌های خود واکنشگر به علت طول دوره حیات لنفوسیت‌های فعال شده که آن هم با دریافت پیام‌های مرگ از پیش برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) تنظیم می‌گردد، محدود می‌شوند. علیرغم سیستم‌های چند لایه تنظیمی، کلون‌های خودواکنشگر سلول‌های T یا B معمولاً فعال شده و موجب پاسخ‌های ایمنی سلولی یا هومورال علیه آنتی‌ژن‌های خودی می‌گردند. چنین پاسخ‌های ایمنی نامناسب علیه ترکیبات خودی، **خود ایمنی**[1] نامیده می‌شود. واکنش‌های خود ایمن می‌توانند آسیب‌جدی به سلول‌ها و اعضای خودی وارد کنند که گاهی اوقات با عواقب مرگ‌باری همراه می‌باشند.

در برخی موارد، آسیب به سلول‌ها یا اعضای خودی توسط آنتی‌بادی‌ها ایجاد می‌شود؛ در موارد دیگر، سلول‌های T مقصر می‌باشند. برای مثال، یک شکل معمول از خود ایمنی در اثر مکانیسم‌هایی مشابه با واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع II ایجاد می‌شود. همان‌طور که در فصل ۱۵ دیدیم، در واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع II، تخریب سلول‌ها با واسطه آنتی‌بادی‌ها صورت می‌گیرد. آنمی‌همولیتیک خود ایمن بهترین مثال از چنین بیماری‌های خود ایمن می‌باشد. در این بیماری، آنتی‌ژن‌های موجود بر سطح گلبول‌های قرمز، توسط اتوآنتی‌بادی‌ها مورد شناسایی قرار گرفته که منجر به انهدام آنها و شروع روند کم‌خونی می‌گردد. همچنین اتوآنتی‌بادی‌ها، مهاجمین اصلی در بیماری هاشیموتو می‌باشند که در آن، آنتی‌بادی‌ها با آنتی‌ژن‌های اختصاصی عضو مثل تیروئید پراکسیداز و تیروگلبولین واکنش داده و موجب تخریب شدید بافت می‌شوند. سایر بیماری‌های خود ایمن که اتوآنتی‌بادی‌ها در آنها دخالت دارند در جدول ۱-۱۶ آورده شده‌اند.

بسیاری از بیماری‌های خود ایمن، با تخریب مستقیم بافت توسط سلول‌های T مشخص می‌شوند. یک مثال بسیار مشهور، آرتریت روماتوئید می‌باشد که در آن، سلول‌های T خود واکنشگر بافت مفصلی را مورد هجوم قرار داده و منجر به یک پاسخ التهابی گردیده که به

1- autoimmunity

www.bbooks.ir

تورم و تخریب بافتی می‌انجامد. مثال‌های دیگر شامل دیابت ملیتوس وابسته بـه انسـولین و مولتیپل اسکلروزیس می‌باشند (جدول ۱-۱۶).

TABLE 16-1 Some autoimmune diseases in humans

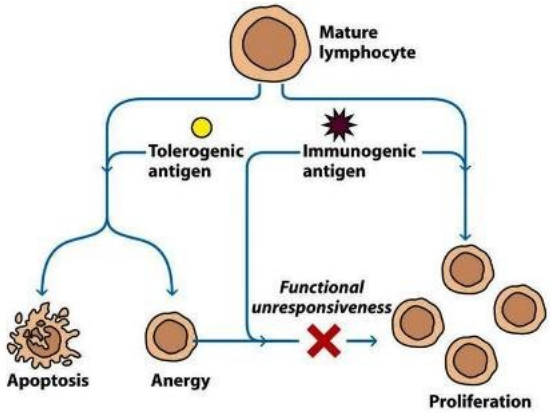
Disease	Self antigen	Immune response
ORGAN-SPECIFIC AUTOIMMUNE DISEASES		
Addison's disease	Adrenal cells	Auto-antibodies
Autoimmune hemolytic anemia	RBC membrane proteins	Auto-antibodies
Goodpasture's syndrome	Renal and lung basement membranes	Auto-antibodies
Graves' disease	Thyroid-stimulating hormone receptor	Auto-antibody (stimulating)
Hashimoto's thyroiditis	Thyroid proteins and cells	T_H1 cells, auto-antibodies
Idiopathic thrombocyopenia purpura	Platelet membrane proteins	Auto-antibodies
Insulin-dependent diabetes mellitus	Pancreatic beta cells	T_H1 cells, auto-antibodies
Myasthenia gravis	Acetylcholine receptors	Auto-antibody (blocking)
Myocardial infarction	Heart	Auto-antibodies
Pernicious anemia	Gastric parietal cells; intrinsic factor	Auto-antibody
Poststreptococcal glomerulonephritis	Kidney	Antigen-antibody complexes
Spontaneous infertility	Sperm	Auto-antibodies
SYSTEMIC AUTOIMMUNE DISEASES		
Ankylosing spondylitis	Vertebrae	Immune complexes
Multiple sclerosis	Brain or white matter	T_H1 cells and T_C cells, auto-antibodies
Rheumatoid arthritis	Connective tissue, IgG	Auto-antibodies, immune complexes
Scleroderma	Nuclei, heart, lungs, gastrointestinal tract, kidney	Auto-antibodies
Sjögren's syndrome	Salivary gland, liver, kidney, thyroid	Auto-antibodies
Systemic lupus erythematosus (SLE)	DNA, nuclear protein, RBC and platelet membranes	Auto-antibodies, immune complexes

در این فصل، ما در ابتدا مکانیسم‌های عمومی محدود کـردن خـودواکنش‌گـری بـا حفـظ تحمل به آنتی‌ژن‌های خودی را شرح می‌دهیم، سپس بیماری‌های خود ایمن شایع انسانی که در نتیجه شکست این مکانیسم‌ها ایجاد می‌شوند را توضیح می‌دهیم. این بیماری‌ها می‌تواننـد در دو گروه بزرگ طبقه‌بندی شوند؛ بیماری‌های خود ایمن اختصاصی عضـو و بیمـاری‌هـای خود ایمن سیستمیک (جدول ۱-۱۶). چنین بیماری‌هایی در ۵ تا ۷ درصد جمعیـت انسـانی دیده می‌شوند که اغلب سبب بیماری‌های مزمن و ناتوان کننده می‌گردند. مدل‌های تجربـی حیوانی که جهت مطالعه خود ایمنی به کار می‌روند و مکانیسم‌های مختلفی که ممکن اسـت در شکل‌گیری واکنش‌های خود ایمنی شرکت داشته باشند و همچنـین درمـان‌هـای رایـج و تجربی بیماری‌های خود ایمن نیز شرح داده خواهند شد.

www.bbooks.ir

- شکل‌گیری و حفظ تحمل

لایه‌های حفاظتی متعددی که توسط سیستم ایمنی به کار گرفته می‌شوند تا از واکنش سلول‌ها و آنتی‌بادی‌هایش علیه ترکیبات میزبان و حمله بیماری خودایمن، محافظت کنند، تحت عنوان کلی تحمل قرار می‌گیرند. تحمل، حالتی از بی‌پاسخی در برابر یک آنتی‌ژن می‌باشد. مکانیسم‌های ایجاد این بی‌پاسخی متنوع می‌باشند. در شرایط طبیعی، مواجهه سیستم ایمنی با یک آنتی‌ژن، به یک پاسخ ایمنی می‌انجامد، ولی عرضه آنتی‌ژن در برخی اشکال دیگر می‌تواند به تحمل با بی‌پاسخی سیستم ایمنی منجر شود(شکل ۲-۱۶).



شکل ۲-۱۶: یک آنتی ژن ممکن است ایمونوژن یا تولروژن باشد و این امر به فاکتورهایی مانند دوز و شیوه مواجهه با آن بستگی دارد.

به آنتی‌ژن‌هایی که موجب القای تحمل می‌شوند به جای ایمونوژن، **تولروژن**[1] می‌گویند. یک ترکیب شیمیایی براساس چگونگی عرضه به سیتسم ایمنی، می‌تواند ایمونوژن یا تولروژن باشد. برای مثال، آنتی‌ژن عرضه شده به سلول‌های T در غیاب پیام‌های کمک‌تحریکی مناسب، به تحمل می‌انجامد که به آن آنرژی یا بی‌پاسخی می‌گویند. در حالی که عرضه

1- tolerogen

www.bbooks.ir

آنتی‌ژن مشابه همراه با مولکول‌های کمک تحریکی، آن را به صورت یک ایمونوژن قوی در می‌آورد. عواملی که به جای تحریک سیستم ایمنی، تحمل را پیش می‌برند شامل موارد زیر می‌باشند:

- دوزهای بالای آنتی‌ژن
- بقای آنتی‌ژن در میزبان
- تجویز داخل وریدی یا خوراکی
- عدم حضور ادجوانت‌ها
- سطوح پایین کمک محرک‌ها

به خوبی مشخص شده که تجویز خوراکی آنتی‌ژن‌ها می‌تواند موجب القای تحمل گردد، در حالی که تجویز همان آنتی‌ژن به صورت زیرجلدی یا داخل پوستی می‌تواند ایمنی‌زا باشد. به طور مشخص، تحمل، اختصاصی آنتی‌ژن می‌باشد: غیر فعال شدن یک پاسخ ایمنی در اثر تحمل، موجب سرکوب کلی سیستم ایمنی نمی‌شود و در عوض برای آنتی‌ژن تحمل زا اختصاصی می‌باشد.

دردهه ۱۹۶۰ محققین بر این باور بودند که تمامی لنفوسیت‌های خود واکنشگر، طی بلوغ در مغز استخوان و تیموس حذف می شوند و نقص در حذف چنین سلول‌هایی به خود ایمنی می‌انجامد. شواهد تجربی اخیر در مقابل این باور قرار دارند. مشخص شده که افراد سالم و طبیعی نیز دارای لنفوسیت‌های خودواکنشگر بالغ و در حال گردش در جریان خون می‌باشند. از آنجایی که حضور این لنفوسیت‌های خود واکنشگر در محیط منجر به خود ایمنی نمی‌گردد، پس در افراد طبیعی می‌بایست فعالیت آنها توسط مکانیسم‌های دیگری تنظیم شود. روش‌های حفظ تحمل شامل القای مرگ سلولی یا بی‌پاسخی سلولی و محدود کردن فعالیت سلول‌های T توسط سلول‌های Treg می‌باشند.

www.bbooks.ir

- تحمل مرکزی تکامل سلول‌های خودواکنشگر B و T را محدود می‌کند

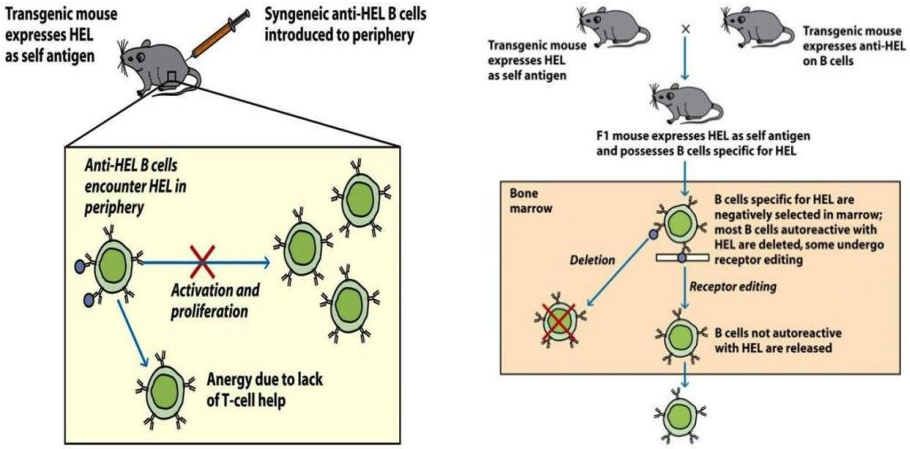
مکانیسم اصلی ایجاد تحمل، حذف لنفوسیت‌هایی که ممکن است علیه اجزای خودی واکنش دهند در مراحل اولیه بلوغ می‌باشد. مکانیسم‌هایی که در سلول‌های B و T ایجاد تنوع می‌کنند را به خاطر بیاورید. همان‌طور که در فصل ۵ و ۹ بحث شد، بازآرایی‌های ژنتیکی که موجب شکل‌گیری Ig و TCR عملکردی می‌شوند، طی‌روندی رخ می‌دهند که در آن هر ژن ناحیه V می‌تواند با هر کدام از قطعات ژنی D یا J همراه شود و از نظر تئوری واکنش آن با آنتی‌ژن خودی امکان‌پذیر می‌باشد. اگر این روند مکرراً رخ دهد، پذیرنده‌های سلول Tو Igها می‌توانند در ساختمان سلول‌های Tو B قرار بگیرند که خودی را می‌شناسد و منجر به خود ایمنی می‌گردند. پذیرنده‌های کلون‌هایی که با خودی واکنش می‌دهند، می‌توانند تغییر یافته یا ویرایش شوند که موجب کاهش میل ترکیبی آنها به آنتی‌ژن های خودی به سطحی پایین‌تر از حد آستانه که به بیماری منجر می شود، می‌گردد. همان‌طور که در فصل ۱۰ و ۱۱ اشاره شد، تحمل مرکزی موجب حذف سلول‌های B خودواکنشگر در مغز استخوان و سلول‌های T خودواکنشگر در تیموس می‌گردد. با وجودی که دانسته‌های ما در مورد مکانیسم‌های مولکولی دقیق تحمل مرکزی سلول‌های B و T کامل نمی‌باشد ولی این را می‌دانیم که سلول‌های B و T یک رویداد تکاملی تنظیم شده را پشت‌سر می‌گذارند که گزینش منفی نام داشته و موجب القای مرگ در سلول‌هایی می‌گردد که دارای پذیرنده‌های سلول B و T خودواکنشگر بالقوه باشند.

با شناخت طبیعت بازآرایی‌های V(D)J ، منطقی به نظر می‌رسید که پدیده‌ای مانند تحمل جهت حذف سلول‌های B و Tخود واکنشگر در مرحله تکامل وجود داشته باشد. یکی از آزمایشات کلاسیک که نشان می‌داد لنفوسیت‌های خودواکنشگر پس از برخورد با آنتی‌ژن‌های خودی، حذف یا غیرفعال می‌شوند، توسط گودنو[1] و همکارانش در سال ۱۹۹۱ انجام شد. موش‌هایی که ژن انتقالی ایمونوگلبولین اختصاصی لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ

1- C. C. Goodnow

www.bbooks.ir

(HEL) را بیان می‌کردند با موش‌هایی که ژن انتقالی لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ را بیان می‌کردند، آمیزش داده شدند (شکل ۳a-۱۶).



شکل ۳-۱۶:آزمایشات اثبات کننده تحمل مرکزی و محیطی. (a) زمانی که موش های anti-HEL$^+$ با موش های HEL$^+$ جفت می شوند، سلول های B زاده های نسل اول در طی بلوغ در مغز استخوان با آنتی ژن HEL مواجه می شوند و این امر منجر به حذف یا ویرایش پذیرنده می شود. (b) سلول های anti-HEL B به موش های عرضه کننده HEL تزریق می شوند؛ سلول های B به فولیکول های لنفاوی طحال یا غدد لنفی وارد نشده و به پلاسما سل تمایز نمی یابند.

سلول‌های B فرزندان در طول تکامل در مغز استخوان با لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ مواجه می‌شوند. گودنو و همکارانش مشخص کردند که موش‌های نسل اول فاقد سلول‌های B بالغی می‌باشند که آنتی‌بادی ضد سفیده تخم‌مرغ را در سطح خود بیان می‌کنند. مطالعات بعدی در آزمایشگاههای متعدد نشان دادند که در اکثر مواقع، سلول‌های B خود واکنشگر در حال تکامل، در اثر القای آپوپتوز در مغز استخوان،حذف می‌شوند. دیوید نمازی[1] و همکارانش این مشاهدات را بسط داده و نشان دادند که برخی از سلول‌های B در حال تکامل، دستخوش

1-David Nemazee

www.bbooks.ir

پدیده‌ای به نام «**ویرایش پذیرنده**[1]» می‌شوند. در این سلول‌ها، ناحیه V اختصاصی آنتی‌ژن، ویرایش می‌گردد و از طریق نوترکیبی V(D)J، یک قطعه ژنی Vمتفاوت جایگزین قطعه Vخود واکنشگر می‌گردد (ویرایش اغلب موارد در ناحیه V_L رخ می‌دهد). ویرایش پذیرنده همانند آپوپتوز یا حذف کلونی به عنوان یکی از مکانیسم‌هایی که منجر به تحمل مرکزی در سلول‌های B می‌گردد، شناخته می‌شود. با مکانیسمی مشابه، سلول‌های T در حال تکامل در تیموس که یک میل ترکیبی بسیارزیاد به آنتی‌ژن‌های خودی داشته باشند، حذف می‌شوند که عمدتاً بواسطه آپوپتوز می‌باشد.

- تحمل محیطی، سلول‌های خودواکنشگر گردشی را تنظیم می‌کند

یافته مهم دیگر از آزمایشات انجام شده بر روی موش‌های ترانس ژن anti-HEL بدست آمد؛ در صورتی که HEL بر سطح غشای سلولی بیان شود موجب حذف تمامی سلول‌های B نابالغی می‌گردد که دارای Ig ضد HEL هستند. در صورتی که اگر HEL ، ترشح شود و به صورت پروتئینی محلول وجود داشته باشد، سلول‌های B بالغ شده، از مغز استخوان خارج می‌شوند و در اعضای محیطی یافت می‌گردند. این سلول‌ها به آنتی‌ژن HEL پاسخ نداده و در وضعیت بی‌پاسخی یا آنرژی قرار دارند. همان‌طور که در مطالعات HEL نشان داده شد و چندین مثال دیگر، تحمل مرکزی یک فرآیند بدون شکست نبوده و قادر به حذف تمامی لنفوسیت های خودواکنشگر نمی‌باشد، زیرا (۱) تمامی آنتی‌ژن‌های خودی در اعضای لنفاوی مرکزی که گزینش منفی در آنجا رخ می‌دهد، بیان نمی‌شوند، و (۲) قبل از شروع حذف کلونی، آستانه‌ای برای میل ترکیبی به آنتی‌ژن‌های خودی وجود دارد که اجازه می‌دهد تا برخی از کلون‌هایی که واکنش ضعیفی علیه خودی دارند، زنده بمانند.

در برخی موارد، سلول‌های خودواکنشگر B و T از حذف در تیموس یا مغز استخوان فرار کرده و در محیط ظاهر می‌شوند. شکلی از تحمل به نام تحمل محیطی، چنین سلول‌هایی را

1- receptor editing

www.bbooks.ir

غیر فعال می‌کند. تحمل محیطی به صورت غیرفعال‌سازی سلول‌های T یا B خود واکنشگر تعریف می‌شود که آن سلول‌ها را از پاسخ به خود ناتوان می‌سازد. همانند تحمل مرکزی، شواهد تجربی در گذشته، وجود تحمل محیطی را نیز پیش‌بینی کرده بودند. دوباره، هنگامی که از موش‌های ترانس ژنتیک حاوی ایمونوگلبولین ضد HEL و موش‌هایی که HEL را بیان می‌کنند، استفاده شود، HEL عرضه شده به سلول‌های B بالغ ضد HEL در بافت‌های محیطی، آنها را غیر فعال کرده و این سلول‌ها هرگز به فولیکول‌های لنفاوی طحال یا غدد لنفاوی مهاجرت نخواهند کرد (شکل ۳b-۱۶). به یاد داشته باشید که سلول‌هایB، پس از بلوغ و گزینش در فولیکول‌های لنفاوی و مراکز زایا تبدیل به پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی می‌شوند. یک خصوصیت مهم که در این آزمایشات مشخص می‌شود، این است که در موش‌های بیان کننده HEL، سلول‌های T که HEL را شناسایی می‌کنند، بدلیل تحمل مرکزی، قبل از بلوغ و رهاسازی از بین می‌روند. سلول‌های B می‌توانند آنتی‌ژن را شناسایی کنند ولی کمک‌های بعدی را از سلول T دریافت نمی‌کنند و در نتیجه دچار بی‌پاسخی شده و به مراکز زایا نیز مهاجرت نمی‌کنند.

تحمل محیطی سلول‌های T توسط آزمایشات مختلفی بررسی شده و مکانیسم‌های ایجاد کننده آن نیز شناسایی شده‌اند. همان‌طور که در فصل ۱۰ دیدیم، سلول‌هایT جهت فعال شدن، تنها به شناسایی آنتی‌ژن عرضه شده همراه با مولکول‌های MHC خودی نیاز نداشته بلکه پیام‌های کمک تحریکی نیز می‌بایست حاضر باشند. آزمایشات اولیه توسط جنکنز[1]، مولر[2] و شوارتز[3] نشان دادند که در شرایط in vitro تحریک کلون‌های سلول $CD4^+T$ با واسطه TCR به تنهایی، موجب بی‌پاسخی آن سلول‌ها می‌گردید. آنها برای توصیف این حالت بی‌پاسخی، واژه **بی‌پاسخی کلونی**[4] را به کار بردند. یافته‌های بعدی مشخص کردند

1- M. K. Jenkis
2- D. Muller
3- R. H. Schwartz
4- clonal anergy

www.bbooks.ir

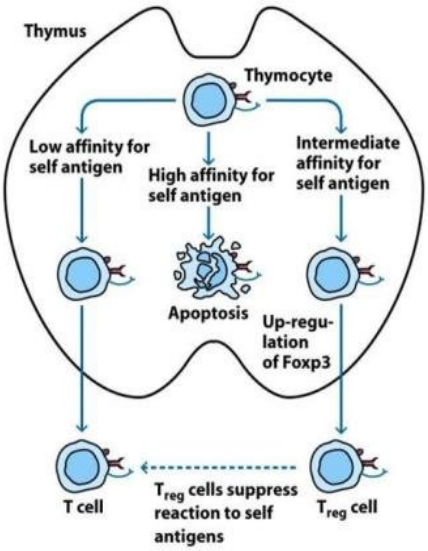
که میانکنش بین CD28 سلول‌های T و B7 موجود بر سطح عرضه کننده آنتی‌ژن پیام‌های کمک تحریکی ضروری را جهت فعال شدن سلولT فراهم می‌کند.

پس از آگاهی یافتن از این که پیام‌های CD28/B7، پیام‌های کمک تحریکی لازم را برای فعالیت سلول‌های T فراهم می‌کنند، آزمایشات دقیقی در این زمینه صورت گرفت که نشان‌دهنده وجود پذیرنده‌های مهاری مانند CTLA-4 بودند. CTLA-4 همانند CD28 به B7 متصل می‌شود. ولی به جای فراهم کردن پیام‌های فعالیت، CTLA-4 فعالیت سلول‌های T را مهار می‌کند. در واقع، بیان CTLA-4 پس از فعال شدن سلول‌های T، القا می‌شود. با حذف شدن ژن کدکننده CTLA4 نقش این مولکول در تحمل مشخص می‌گردد. در موش‌های فاقد CTLA-4، بیماری‌های خود ایمن و تکثیر زیاد لنفوسیت‌ها به چشم می‌خورد، که نشان دهنده نقش این مولکول در تحمل می‌باشد.

- سلول‌های Tتنظیمی بخشی از تحمل محیطی می‌باشند

تحمل محیطی می‌تواند توسط سلول‌های T تنظیمی (سلول‌های Treg) نیز القا شود. سلول‌های Treg در بافت‌های لنفاوی ثانویه و جایگاههای التهاب، روندهای خود ایمنی را کاهش می‌دهند. به خاطر آورید که سلول‌های Tregزیر رده خاص از سلول‌های $CD4^+T$ هستند و مقادیر بالایی از زنجیره α پذیرنده IL-2 (CD25) را بیان می‌کنند. این سلول‌ها در تیموس از زیر رده‌ای از سلول‌های Tنشأت می‌گیرند که پذیرنده‌هایی با میل ترکیبی متوسط برای آنتی‌ژن‌های خودی را بیان می‌کنند (شکل ۴-۱۶).

www.bbooks.ir



شکل ۴-۱۶: سلول های T تنظیمی (T_{reg}) از تیموسیت ها و در طی گزینش منفی در تیموس بوجود می آیند.

در برخی از این سلول‌ها، بیان فاکتور نسخه‌برداری **Foxp3** افـزایش یافتـه و سـپس بـه سلول‌های Treg که قادر به سرکوب واکنش علیه آنتی‌ژن‌های خودی هستند، تمایز می‌یابند. توانایی سلول‌های Treg در مهار پاسخ ایمنی بوسـیله آزمایشـاتی کـه بـر روی **مـوش‌هـای دیابتی غیرچاق (NOD)**[1] و رت‌های BB (اولین مدل حیوانی دیابت نوع I خود ایمـن)، کـه دو نژاد مستعد برای شکل‌گیری دیابت خود ایمن مـی‌باشـند، نشـان داده شـد. در صـورت تزریق سلول‌های $CD4^+T$ طبیعی و سازگار از نظر بـافتی بـه مـوش‌هـای NODو **رت‌هـای BB**،[2] حمله دیابت در آنها به تعویق خواهد افتاد. تعیـین خصوصـیت سـلول‌هـای $CD4^+T$، مشخص کرد که سلول‌هایی با مقادیر بالای CD25 مسئول سرکوب دیابت در این مدل‌های حیوانی می‌باشند. مکانیسم‌های که سلول‌های Treg توسط آنها پاسخ‌های ایمنـی را سـرکوب

1- non obese diabetic mice
2- biobreeding rats

www.bbooks.ir

می‌کنند، به شدت تحت بررسی می‌باشند، ولی مشخص شده که تنظیم سرکوب، حداقل در قسمتی، از طریق تولید سایتوکاین‌هایی مثل IL-10 و TGF-β صورت می‌گیرد.

مرگ سلولی در ایجاد تحمل محیطی و تحمل مرکزی نقش مهمی را ایفا می‌کند. شواهد این امر، وقوع جهش‌های طبیعی در گیرنده‌های مرگ Fas یا لیگاند Fas(FasL) و شکل‌گیری بیماری‌های خود ایمن سیستمیک می‌باشد. همان‌طور که در فصل ۱۰ بحث شد، سلول‌های T فعال شده مقادیر بالایی از Fas و FasL را بیان می‌کنند. در هر دو سلول B و T، اشغال Fas توسط FasL موجب القای مرگ آپوپتوزی سریع به نام مرگ القا شده در اثر فعالیت (AICD) می‌گردد. موش‌هایی که حامل جهش‌های غیر فعال کننده در Fas (lpr/، lp) و FasL (gld/gld) می‌باشد، قادر به ورود به مسیر AICD نبوده و در اوایل زندگی به بیماری خود ایمن دچار می‌شوند.

- مخفی شدن آنتی‌ژن وسیله‌ای جهت حفاظت از آنتی‌ژن‌های خودی می‌باشد

علاوه بر مکانیسم‌های متنوع تحمل مرکزی و محیطی که در بالا شرح داده شد، یک روش مؤثر جهت اجتناب از واکنش علیه خود، مخفی شدن آنتی‌ژن‌ها می‌باشد، به طوری که در شرایط طبیعی نتوانند با لنفوسیت‌های واکنش‌دهنده مواجه شوند. در صورتی که آنتی‌ژن هرگز با سلول‌های ایمنی برخورد نداشته باشد، امکان واکنش آنها نیز وجود نخواهد داشت. هر چند که یکی از نتایج مخفی شدن این است که آنتی‌ژن‌ها با لنفوسیت‌های در حال تکامل نیز برخورد نمی‌کنند و علیه آنها تحمل نیز ایجاد نمی‌شود. در صورت شکسته شدن موانع میان سلول‌های ایمنی و آنتی‌ژن‌های مخفی شده در اثر تلقیح آنتی‌ژن، ضربه یا مواد شیمیایی خاص، این آنتی‌ژن‌ها به عنوان بیگانه در نظر گرفته خواهند شد زیرا سیستم ایمنی قبلاً با آن برخوردی نداشته است. برای مثال، شکستن سد خونی- مغزی می‌تواند موجب واکنش علیه اجزایی از سیستم عصبی مرکزی گردد.

www.bbooks.ir

- شکست تحمل منجر به خود ایمنی می‌گردد

به عبارتی ساده، بیماری خود ایمن در اثر نقص فرآیندهای تحمل جهت حفاظت میزبان از لنفوسیت‌های خودواکنشگر، ایجاد می‌شود. واضح است که تحمل در جلوگیری از بیماری‌های خود ایمن عمل می‌کند. شواهد دال بر صحت این موضوع، مربوط به جهش‌های طبیعی بوده که تحمل را مختل می‌کنند و منجر به خود ایمنی می‌شوند. ارتباط بین Fas ، FasLو خود ایمنی زمانی تقویت شد که مشخص گردید، بیماران مبتلا به یک فرم نادر ارثی از بیماری خود ایمن به نام سندرم لنفوپرولیفراتیو خود ایمن (ALPS) حامل جهش‌هایی در ژن Fas می‌باشند. همانند موش‌های lpr/، lp ، این بیماران نیز مبتلا به بیماری خود ایمن شدیدی هستند که چندین عضو راتحت تأثیر قرار می‌دهد.

یک بیماری خود ایمن انسانی به نام پلی‌اندوکرینوپاتی –کاندیدیازیس – دیستروفی‌اکتودرمال خود ایمن (APECED) چندین سال است که مورد مطالعه قرار گرفته زیرا این بیماری توسط یک لوکوس اتوزومی منفرد ایجاد شده و با الگوی توارثی مغلوب به ارث می‌رسد. بدلیل این که این بیماری تنها حالت خود ایمن بوده که به صورت مندلی به ارث می‌رسد، یک مدل مناسب جهت رمزگشایی اجزای ژنتیکی خود ایمنی، برای دانشمندان علم ژنتیک می‌باشد. APECED به عنوان یک بیماری خود ایمن چندگانه بوده که به صورت دیستروفی‌های اکتودرمال، کاندیدیازیس جلدی مخاطی مزمن و اندوکرینوپاتی بروز می‌کند. ژن مسبب APECED توسط دو گروه مستقل اخیراً جداسازی شده است. ژن APECED یک پروتئین جدید به نام AIRE را کد می‌کند. ظاهراً AIRE در ابتدا در تیموس، پانکراس، کورتکس‌آدرنال بیان گردیده و عرضه آنتی‌ژن‌های بافت‌های محیطی خودی را در سلول‌های اپی‌تلیال مدولای تیموس تنظیم می‌کند، در نتیجه با شکل‌گیری تحمل مرکزی ارتباط دارد. ناهنجاری خود ایمن انسانی دیگر، سندرم وابسته به جنس بی‌نظمی ایمنی – اندوکرینوپاتی – انتروپاتی (IPEX) می‌باشد که برای درک تحمل به ما کمک می‌کند. IPEX یک ناهنجاری کشنده بوده و در بسیاری از خصوصیات با موش‌های

www.bbooks.ir

scurfy که دارای جهش‌های طبیعی هستند، مشترک می‌باشد. تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی بیماران مبتلا به IPEX و موش‌های scurfy منجر به کشف جهش‌هایی در ژن Foxp3 گردید. Foxp3 یک فاکتور نسخه‌برداری بوده که برای تشکیل سلول‌های T تنظیمی $CD4^+/CD25^+$ ضروری می‌باشد و جهش‌های Foxp3 به بیماری خود ایمن زودهنگام و چندکانونی منجر می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که IPEX و scurfy در اثر ناتوانی سلول‌های Treg در تنظیم پاسخ‌های خود ایمن، ایجاد می‌شوند.

اساس ژنتیکی بیماری‌های خود ایمن، موضوع تحقیقات گسترده ای می‌باشد و در بیشتر موارد، چندین ژن در آن دخالت دارند که عمل تعیین دقیق نقص را با مشکل مواجه می‌سازند. در قسمت بعد، برخی از بیماری‌های خود ایمن شایع‌تر شرح داده خواهند شد و براساس مکانیسم‌های پاتوژنیک طبقه‌بندی می‌گردند.

- بیماری‌های خود ایمن مختص عضو

در بیماری‌های خود ایمن مختص عضو، پاسخ‌های ایمن علیه آنتی‌ژن هدف، منحصر به یک عضو یا غده بوده و درنتیجه، بروزشان به همان عضو محدود می‌شود. سلول‌های اعضای هدف ممکن است مستقیماً توسط مکانیسم‌های اجرایی هومورال یا سلولی آسیب ببینند. همچنین ممکن است آنتی‌بادی‌ها موجب تحریک بیش از حد یا مهار عملکرد طبیعی عضو هدف گردند.

- برخی از بیماری‌های خود ایمن در اثر آسیب مستقیم سلولی ایجاد می‌شوند

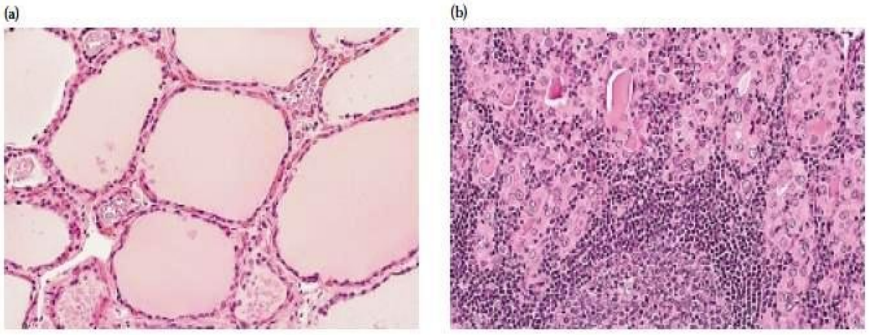
بیماری‌های خود ایمن با آسیب مستقیم سلولی هنگامی رخ می‌دهند که لنفوسیت ها یا آنتی‌بادی‌ها به آنتی‌ژن‌های غشای سلولی متصل شده و موجب لیز سلولی ویا پاسخ التهابی در عضو مبتلا گردند. به تدریج، ساختمان سلولی آسیب‌دیده، توسط بافت همبند جایگزین

www.bbooks.ir

شده (فیبروز) و عملکرد عضو کاهش می‌یابد. در این بخش، ما برخی موارد از این نوع خود ایمنی‌ها را به اختصار شرح می‌دهیم.

- تیروئیدیت هاشیموتو

در تبروئیدیت هاشیموتو که اغلب در زنان میانسال دیده می‌شود، شخص بیمار اتوآنتی‌بادی تولید کرده و سلول‌های T_H1 اختصاصی آنتی‌ژن‌های تیروئید، حساس می‌شوند. پاسخ ازدیاد حساسیت تأخیری (DTH) با ارتشاح فراوان لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و پلاسماسل‌ها در غده تیروئید مشخص می‌شود (شکل ۵-۱۶) و پاسخ التهابی متعاقب آن موجب گواتر یا بزرگی قابل مشاهده غده تیروئید که پاسخی فیزیولوژیک در کم‌کاری تیروئید می‌باشد، می‌گردد.



شکل ۵-۱۶: فوتومیکروگراف هایی از (a) غده تیروئید طبیعی که یک فولیکول پوشیده از سلول های اپی تلیال فولیکولار را نشان می دهد و (b) غده تیروئید در بیماری تیروئیدیت هاشیموتو که شدت عفونت لنفوسیتی را نشان می دهد.

هایپوتیروئیدیسم یا کم‌کاری تیروئید هنگامی ایجاد می‌شود که علیه تعدادی از پروتئین‌های تیروئید مثل تیروگلبولین و تیروئید پراکسیداز که هر دو در برداشت ید دخالت دارند، آنتی‌بادی ایجاد شود. اتصال اتوآنتی‌بادی‌ها به این پروتئین‌ها، با برداشت ید تداخل داشته و به هایپوتیروئیدیسم منجر می‌گردد.

www.bbooks.ir

- کم‌خونی‌های خود ایمن

کم‌خونی‌های خود ایمن شامل آنمی‌پرنیسیوز، آنمی‌همولیتیک خود ایمن و آنمی‌همولیتیک القا شده در اثر دارو می‌باشند. آنمی‌پرنیسیوز در اثر اتو آنتی‌بادی‌ها علیه فاکتور داخلی که یک پروتئین متصل به غشا و موجود روی سلول‌های پاریتال معده بوده، ایجاد می‌شود. فاکتور داخلی عمل برداشت ویتامین B12 را در روده کوچک تسهیل می‌کند. اتصال اتوآنتی‌بادی به فاکتور داخلی، عمل جذب ویتامین B12 با واسطه فاکتور داخلی را مهار می‌کند. در غیاب ویتامین B12 کافی، که برای خونسازی صحیح ضروری می‌باشد، تعداد گلبول‌های قرمز بالغ به کمتر از مقدار طبیعی کاهش می‌یابد. آنمی پرنیسیوز با تزریق ویتامین B12 درمان می‌شود.

فرد مبتلا به آنمی‌همولیتیک خود ایمن، علیه آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز اتوآنتی‌بادی تولید می‌کند که موجب شروع لیز با واسطه کمپلمان یا اپسونیزه کردن با واسطه آنتی‌بادی و فاگوسیتوز گلبول‌های قرمز می‌گردد. شکلی از کم‌خونی خود ایمن در اثر دارو القا می‌شود: هنگامی که داروی خاص مثل پنی‌سیلین یا ماده ضد فشار خون متیل‌دوپا با گلبول قرمز واکنش دهند، سلول‌های خونی آنتی‌ژنیک می‌گردند. تست تشخیصی کم‌خونی‌های همولیتیک خود ایمن، معمولاً آزمون کومبس می‌باشد که در آن گلبول‌های قرمز همراه با آنتی‌سرم ضد IgG انسان انکوبه می‌گردد. در صورت حضور اتوآنتی‌بادی‌های IgG بر سطح گلبول‌های قرمز، آنتی‌سرم موجب آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز (هماگلوتیناسیون) می‌گردد.

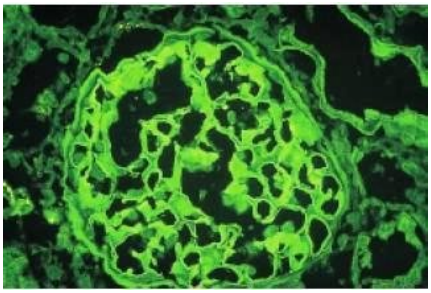
- سندرم گودپاسچر

در سندرم گودپاسچر[1]، اتو آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه آنتی‌ژن‌های غشای پایه به غشای پایه گلومرول‌های کلیه و آلوئول‌های ریوی اتصال می‌یابند. فعال شدن بعدی کمپلمان منجر به آسیب مستقیم سلولی گردیده و محصولات حاصل از تجزیه کمپلمان موجب

1- Goodpasture's syndrom

www.bbooks.ir

شکل‌گیری پاسخ التهابی می‌شوند. آسیب وارد شده به غشاهای پایه‌ای گلومرولی و آلوئـولی موجب آسیب کلیوی پیش‌رونده و خونریزی ریوی می‌گردد. ممکن است مـرگ طـی چنـد هفته پس از شروع علائم اتفاق بیفتد. بیوپسی‌های بیماران مبتلا به سندرم گودپاسچر که بـا anti-C_3b, anti-IgG نشاندار شده با فلورسنت رنگ‌آمیزی شده‌اند، خطـوط رسـوبی IgG و C_3b را در طول غشاهای پایه نشان می‌دهند (شکل ۶-۱۶).



شکل ۶-۱۶: رنگ آمیزی بیوپسی کلیه یک بیمار مبتلا به سندرم گودپاسچر با فلورسنت ضد IgG که رسوب‌های خطی از اتوآنتی بادی را در غشای پایه نشان می دهد.

- دیابت ملتیوس وابسته به انسولین

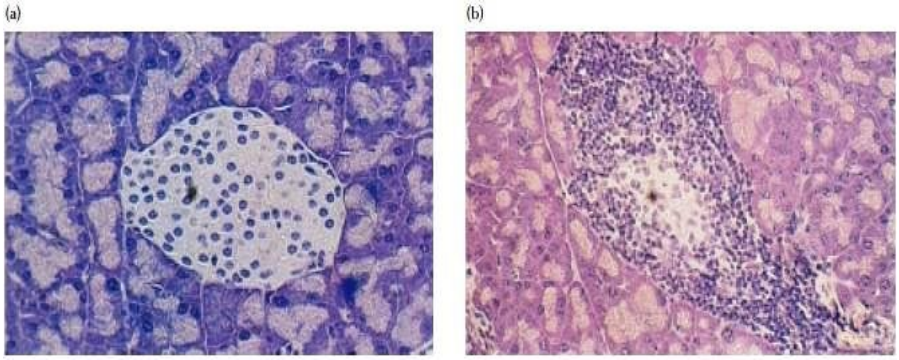
دیابت ملتیوس وابسته به انسولین[1] (IDDM)که ۰/۲٪ جمعیت را مبتلا می‌کنـد، در اثـر حمله ایمنی به پانکراس ایجاد می‌شود. این حمله اختصاصاً علیه سـلول‌هـای تخصـص یافتـه تولید انسولین (سلول‌های β) می‌باشد که به صورت تجمعـات دایـره‌ای شـکل در پـانکراس پراکنده‌اند و جزایرلانگرهانس نامیده می‌شوند. حمله خود ایمن منجر به تخریب سلول‌های β را تخریب کرده و در نتیجه تولید انسولین کاهش یافته و متعاقـب آن سـطح گلـوکز خـون افزایش می‌یابد. چندین فاکتور در تخریب سلول‌هایβ از اهیمت زیادی برخوردارند. اول این که CTLهای فعال شده به داخل جزایر مهاجرت کرده و اقدام به حمله به سلول‌های تولیـد

1- insulin-dependent diabeters mellitus (IDDM)

www.bbooks.ir

کننده انسولین می‌کنند. تولید موضعی سایتوکاین‌ها طی این پاسخ شامل IFN-γ ، TNF-α IL-1 می‌باشد. تولید اتوآنتی‌بادی نیز می‌تواند فاکتور تعیین کننده‌ای در IDDM باشد.

ارتشاح اولیه CTLها و فعالیت ماکروفاژها اغلب با عنوان انسولیت (شکل ۷-۱۶) خوانده شده و در پی آن ترشح سایتوکاین و حضور اتوآنتی‌بادی‌ها منجر به پاسخ DTH خواهد شد.



شکل ۷-۱۶: فوتو میکروگراف هایی از یک جزیره لانگرهانس در (a) پانکراس یک موش سالم و (b) پانکراس موش مبتلا به بیماری شبه دیابت ملیتوس وابسته به انسولین.

تخریب سلول‌های β با واسطه سایتوکاین‌های رها شده طی پاسخ DTH و آنزیم‌های لیتیک رها شده از ماکروفاژهای فعال صورت می‌گیرد. اتوآنتی‌بادی‌های ضد سلول‌های β نیز یا از طریق لیز توسط کمپلمان و با واسطه آنتی‌بادی یا سیتوتوکسیسیته سلولی با واسطه آنتی‌بادی (ADCC) در تخریب سلول‌های β مداخله می‌کنند.

ناهنجاری‌های متابولیسم گلوکز که در اثر تخریب سلول‌های β ایجاد می‌شوند، موجب مشکلات جدی متابولیک مثل کتواسیدوز و افزایش تولید ادرار می‌گردند. مرحله دیررس بیماری اغلب با ضایعات عروقی آترواسکلروتیک مشخص می‌شود که منجر به گانگرن در اندام‌های انتهایی بدن بدلیل توقف جریان عروقی، نارسایی کلیوی و کوری می‌گردد و در صورت عدم درمان به مرگ منجر خواهد شد. شایع‌ترین درمان دیابت، تجویز روزانه انسولین می‌باشد که تقریباً در کنترل بیماری مفید می‌باشد. ولی از آنجایی که دوزهای تکی،

www.bbooks.ir

همانند آزادسازی مداوم و کنترل شده هورمون نمی‌باشند، تزریق دوزهـای دوره‌ای انسـولین کاملاً بر مشکلات ناشی از بیماری، غلبه نخواهد کرد. یکی دیگـر از مشـکلات دیابـت ایـن است که ممکن است تا چندین سال غیرقابـل تشـخیص باشـد و در نتیجـه قبـل از شـروع درمان، ضایعات غیر قابل ترمیمی به بافت پانکراس وارد گردد. تکنیک‌های پیشرفته جهـت پیوند سلول‌های جزیره‌ای خالص شده، برای درمان IDDM نوید بخش بوده‌اند (شـکل ۱۲-۱۷).

- برخی بیماری‌های خود ایمن توسط اتوآنتی‌بادی‌های تحریک کننده یا بلوک‌کننده ایجاد می‌شوند

در برخی از بیماری‌های خود ایمن، آنتی‌بادی‌ها به عنوان آگونسیت عمل کرده و به جـای لیگاند طبیعی به پذیرنده‌های هورمون‌ها اتصال یافته و موجب تحریک فعالیت نامناسب آنها می‌گردند که معمولاً منجر به تولید بیش از حد میانجی‌ها یا افزایش رشد سلول می‌گردد. در طرف مقابل ممکن است اتوآنتی‌بادی‌ها به عنوان آنتاگونیست عمـل کـرده و بـا اتصـال بـه پذیرنده هورمون‌ها عملکرد آنهارا متوقف کنند که معمولاً در ترشح میانجی‌ها اختلال ایجـاد کرده و به تدریج باعث آتروفی عضو درگیر می‌گردد.

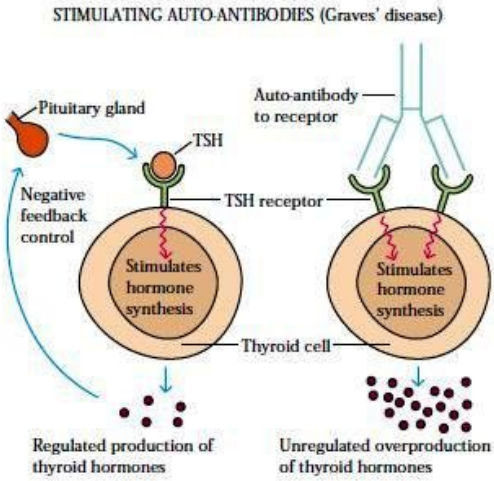
- بیماری گریوز

تولید هورمون‌های تیروئیدی به دقت توسط هورمون محرک تیروئید (TSH)کـه از غـده هیپوفیز ترشح می‌گردد، تنظیم می‌شود. اتصال TSH به پذیرنده موجود بر سطح سلول‌هـای تیروئید، آدنیلات سیکلاز را فعال کرده و ساخت دو هورمون تیروئید به نام‌های تیروکسین و تری‌یدوتیرونین را تحریک می‌کند. در فرد مبتلا به بیماری گریوز[1]، اتوآنتی‌بادی‌هایی تولیـد می‌شوند که با اتصال به پذیرنده TSH، عمل TSH طبیعی را تقلیـد کـرده و موجـب تولیـد

1- Grave's disease

www.bbooks.ir

هورمون‌های تیروئید می‌گردند. این اتوآنتی‌بادی‌ها بـرخلاف TSH، تنظـیم نمـی‌شـوند و در نتیجه موجب تحریک بیش از حد تیروئید می‌شوند. به همین دلیل به این اتـوآنتی‌بـادی‌هـا، آنتی‌بادی‌های محرک تیروئید طولانی اثر (LATS) می‌گویند (شکل ۸-۱۶).



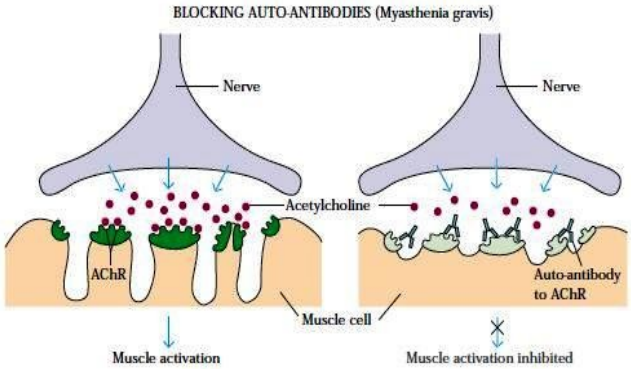
شکل ۸-۱۶: در بیماری گریوز، اتصال اتوآنتی بادی ها به پذیرنده هورمون محرک تیروئید (TSH) موجب فعال سازی خارج از تنظیم تیروئید شده که پیامد آن تولید بیش از حد هورمون های تیروئیدی می باشد.

- میاستنی گراویس

میاستنی گراویس[1] نمونه شاخص بیماری‌های خود ایمنی بوده که توسـط آنتـی‌بـادی‌هـای بلوک کننده ایجاد می‌شوند. فرد مبتلا به این بیماری، اتوآنتی‌بادی‌هایی تولید می‌کند که بـه پذیرنده استیل‌کولین موجود در انتهای حرکتی صفحات ماهیچه‌هـا اتصـال یافتـه، از اتصـال طبیعی استیل‌کولین ممانعت به عمل آورده و موجب القای لیزیا واسـطه کمپلمـان سـلول‌هـا می‌گردند. نتیجه، ضعف پیش‌رونده عضلات اسکلتی می‌باشد (شکل ۹-۱۶).

1- myasthenia gravis

www.bbooks.ir



شکل ۹-۱۶: در میاستنی گراویس، اتصال اتوآنتی بادی ها به پذیرنده استیل کولین (AChR) مانع از اتصال طبیعی استیل کولین و فعال شدن عضله می شود.

در نهایت آنتی‌بادی‌ها موجب تخریب سلول‌های واجد پذیرنده می‌گردند. علائم اولیه این بیماری، شامل افتادن پلک‌ها، عدم توانایی در عقب‌کشیدن گوشه لب‌ها بوده که ظاهری عصبانی می‌دهد. در صورت عدم درمان، ضعف پیش‌رونده عضلات می‌تواند منجر به اختلالات شدید در خوردن و مشکلات حرکتی گردد. هر چند که با درمان مناسب، این بیماری به خوبی کنترل شده و افراد مبتلا می‌توانند زندگی طبیعی داشته باشند.

- بیماری خودایمن سیستمیک

در بیماری‌های خود ایمن سیستمیک، پاسخ به سمت طیف وسیعی از آنتی‌ژن‌های هدف معطوف شده و تعدادی از بافت‌ها و اعضا را درگیر می‌کند. این بیماری‌ها، یک نقص کلی تنظیم ایمنی را منعکس می‌کنند که منجر به سلول‌های B و T بیش فعال می‌گردد. آسیب بافتی گسترده بوده و در اثر هر دو شکل پاسخ‌های ایمنی سلولی و آسیب‌های مستقیم سلولی که توسط اتوآنتی‌بادی‌ها یا تجمع مجموعه‌های ایمنی شکل می‌گیرند، ایجاد می‌شوند.

www.bbooks.ir

- لوپوس ارتیماتوز سیستمیک به بسیاری از بافت‌ها حمله می‌کند

یکی از بهترین مثال‌های بیماری‌های خود ایمن سیستمیک، **لوپوس ارتیماتوز سیستمیک**[1] **(SLE)** بوده که معمولاً در زنان بین ۲۰ تا ۴۰ سال ظاهر می‌شود و نسبت ابتلای زنان به مردان ۱۰ :۱می‌باشد. SLE با تب، ضعف، آرتریت، راش‌های پوستی، ذات‌الریه و اختلال در عملکرد کلیه مشخص می‌شود (شکل ۱۰-۱۶).

شکل ۱۰-۱۶: مشخصات راش سیستمیک پروانه ای بر روی صورت یک دختربچه مبتلا به لوپوس اریتماتوز.

لوپوس در زنان آفریقایی، آمریکایی و اسپانیایی شایع‌تر از نژاد سفیدپوست هند و اروپایی است، هر چند که دلیل آن مشخص نمی‌باشد. افراد مبتلا اتوآنتی‌بادی‌هایی علیه طیف گسترده‌ای از آنتی‌ژن‌های بافتی از جمله DNA، هیستون‌ها، RBCها، پلاکت‌ها، لکوسیت‌ها و عوامل انعقادی تولید می‌کنند؛ میانکنش بین این اتوآنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌های اختصاصیشان، علائم متنوعی ایجاد می‌کند. برای مثال اتوآنتی‌بادی اختصاصی RBCها و پلاکت‌ها می‌توانند موجب لیز با واسطه کمپلمان این سلول‌ها گردند و به ترتیب موجب آنمی‌همولیتیک و ترومبوسیتوپنی شوند. هنگامی که مجموعه‌های ایمنی اتوآنتی‌بادی‌ها با آنتی‌ژن‌های متنوع

1- systemic lupus erythematosus(SLE)

www.bbooks.ir

هسته‌ای، بر روی دیواره‌های عروق کوچک خونی رسوب کنند، واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع III ایجاد می‌شوند. این مجموعه‌ها سیستم کمپلمان را فعال کرده و مجموعه‌های حمله به غشا (MAC) و قطعات حاصل از شکستن کمپلمان را ایجاد می‌کنند که به دیواره عروق خونی آسیب وارد کرده و منجر به واسکولیت و گلومرولونفریت می‌گردند.

فعالیت بیش از حد کمپلمان در بیماران، موجب افزایش مقادیر سرمی قطعات حاصل از تجزیه کمپلمان مثل C3a و C5a به میزان ۳ تا ۴ برابر بیش از حد طبیعی می‌گردد. C5a باعث افزایش بیان پذیرنده کمپلمان نوع 3(CR3) بر سطح نوتروفیل‌ها گردیده و اجتماع نوتروفیلی و اتصال به اندوتلیوم عروقی را تسهیل می‌کند. با اتصال نوتروفیل به عروق خونی کوچک، تعداد نوتروفیل‌های در گردش کاهش می‌یابد(نوتروپنی) و واسکولیت ایجاد می‌شود. انسدادهای عروقی حاصل می‌توانند آسیب بافتی وسیعی ایجاد کنند.

تشخیص آزمایشگاهی SLE بر پایه آنتی‌بادی‌های ضد هسته‌ای که بر علیه DNA دو رشته‌ای و تک‌رشته‌ای، نوکلئوپروتئین‌ها، هیستون‌ها و RNA هسته‌ای تولید می‌شوند، استوار می‌باشد.

رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسنت غیر مستقیم توسط سرم بیماران مبتلا به SLE، الگوهای رنگ‌آمیزی هسته‌ای متنوعی را ایجاد می‌کند.

- مولتیپل اسکلروزیس سیستم عصبی مرکزی را درگیر می‌کند

شایع‌ترین علت ناتوانی عصبی مرتبط با بیماری در جوامع غربی، مولتیپل اسکلروزیس[1] (MS) می‌باشد. علائم این بیماری ممکن است خفیف باشد مثل کرختی و بی‌حسی در دست‌ها و پاها یا شدید مثل فلجی یا از دست دادن بینایی باشد. اکثر افراد مبتلا به MS بین سنین ۲۰ تا ۴۰ سالگی تشخیص داده می‌شوند. این افراد سلول‌های T خودواکنشگری تولید می‌کنند که در ایجاد ضایعات التهابی در طول غلاف میلینی رشته‌های عصبی، شرکت

1- multiple sclerosis

www.bbooks.ir

می‌کنند. مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به MS فعال، حاوی لنفوسیت‌های T فعال شده‌ای هستند که به بافت معز ارتشاح یافته و موجب ضایعات التهابی و تخریب میلین می‌شوند. از آنجایی که عملکرد میلین، عایق‌بندی کردن رشته‌های عصبی می‌باشد، تخریب غلاف میلین به اختلالات عصبی متعددی منجر خواهد شد.

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند که MS در نیمکره شمالی و به طور قابل ملاحظه‌ای درایالات متحده، شایع‌تر می‌باشد. وقوع بیماری در جمعیت‌هایی که در شمال مدار جعرافیایی ۳۷ زندگی می‌کنند، ۱۱۰ تا ۱۴۰ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر و درمردمی که در جنوب مدار ۳۷ ساکن هستند، ۵۷ تا ۷۸ مورد در ۱۰۰۰۰۰ نفر می‌باشد. این اطلاعات نشان می‌دهند که یک‌سری عوامل طبیعی در افزایش خطر ابتلا به MS تأثیر دارند. این کل داستان نبوده و تأثیرات ژنتیکی نیز از اهمیت زیادی برخوردارند. اگر چه به صورت متوسط، احتمال ابتلای به MS در ایالات متحده ۱ مورد در ۱۰۰۰ نفر می‌باشد ولی در خویشاوندان افراد مبتلا به MS مثل فرزندان یا خواهر و برادر، این احتمال ۱ در ۵۰ تا ۱۰۰ می‌باشد. در صورتی که یکی از دوقلوهای همسان به MS مبتلا باشد، این احتمال در فرد دیگر ۱ در ۳ می‌باشد. این اطلاعات به شدت تأثیر ژنتیک بر بیماری را نشان می‌دهند. احتمال وقوع MS در زنان ۲ تا ۳ برابر بیشتر از مردان می‌باشد (قسمت تمرکز بالینی).

علت ایجاد MS مانند اکثر بیماری‌های خودایمن به خوبی شناخته نشده است. هر چند که برخی از علائم، نشان‌دهنده احتمال افزایش استعداد ابتلا به MS در افرادی است که به عفونت‌های ویروسی خاصی مبتلا شده‌اند. برخی ویروس‌ها می‌توانند موجب تخریب میلین شوند و عقیده بر آن است که عفونت ویروسی نقش مهمی در MS بازی می‌کند، ولی در حال حاضر اطلاعات قطعی که بر ویروس خاصی دلالت کند، در دست نمی‌باشد.

www.bbooks.ir

- آرتریت روماتوئید به مفاصل حمله می‌کند

آرتریت روماتوئید[1] یک اختلال خود ایمن شایع بوده که اغلب، زنان بین ۴۰ تا ۶۰ سال را مبتلا می‌کند. علامت اصلی، التهاب مزمن مفاصل بوده، اگر چه سیستم‌های خونی، قلبی عروقی و تنفسی نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرند. اکثر افراد مبتلا به آرتریت روماتوئید، دسته‌ای از اتوآنتی‌بادی‌ها به نام فاکتورهای روماتوئیدی[2] را تولید می‌کنند که با شاخص‌های ناحیه Fc مولکول IgG واکنش می‌دهند. فاکتور روماتوئید کلاسیک از کلاس IgM می‌باشد. چنین اتوآنتی‌بادی‌هایی به IgGهای طبیعی موجود در گردش خون اتصال یافته و مجموعه‌های IgG -IgM تشکیل می‌دهند که در مفاصل رسوب می‌کنند. این مجموعه‌های ایمنی قادر به فعال‌کردن آبشار کمپلمان می‌باشند که به واکنش ازدیاد حساسیت، نوع III و التهاب مزمن مفاصل می‌انجامد.

- مدل‌های حیوانی بیماری های خود ایمن

مدل‌های حیوانی بیماری‌های خود ایمن نگرش‌های با ارزشی در مورد مکانیسم‌های خود ایمنی، درک بیماری‌های خود ایمن انسانی و درمان‌های قدرتمند فراهم می‌کنند. خود ایمنی به صورت خودبه خود در برخی نژادهای خاص حیوانات و همچنین در برخی دستکاری‌های تجربی، ایجاد می‌شود (جدول ۲-۱۶).

1- rheumatoid arthritis
2- rheumatoid factors

www.bbooks.ir

TABLE 16-2 Experimental animal models of autoimmune diseases

Animal model	Possible human disease counterpart	Inducing antigen	Disease transferred by T cells
SPONTANEOUS AUTOIMMUNE DISEASES			
Nonobese diabetic (NOD) mouse	Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)	Unknown	Yes
(NZB × NZW) F_1 mouse	Systemic lupus erythematosus (SLE)	Unknown	Yes
Obese-strain chicken	Hashimoto's thyroiditis	Thyroglobulin	Yes
EXPERIMENTALLY INDUCED AUTOIMMUNE DISEASES*			
Experimental autoimmune myasthenia gravis (EAMG)	Myasthenia gravis	Acetylcholine receptor	Yes
Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)	Multiple sclerosis (MS)	Myelin basic protein (MBP); proteolipid protein (PLP)	Yes
Autoimmune arthritis (AA)	Rheumatoid arthritis	*M. tuberculosis* (proteoglycans)	Yes
Experimental autoimmune thyroiditis (EAT)	Hashimoto's thyroiditis	Thyroglobulin	Yes

*These diseases can be induced by injecting appropriate animals with the indicated antigen in complete Freund's adjuvant. Except for autoimmune arthritis, the antigens used correspond to the self antigens associated with the human disease counterpart. Rheumatoid arthritis involves reaction to proteoglycans, which are self antigens associated with connective tissue.

- شکل‌گیری خود به خودی خود ایمنی در حیوانات

تعدادی از بیماری‌های خود ایمن حیوانات که به صورت خود به خودی شکل می‌گیرند دارای شباهت‌های بالینی و پاتولوژیک با انواع انسانی همان بیماری خاص هستند. برخی از نژادهای خاص از موش‌های دست‌نخورده، مدل‌های ارزشمندی برای نشان دادن نقایص ایمنی در شکل‌گیری خود ایمنی می‌باشند. موش‌های سیاه نیوزلند (NZB)و نسل اول هیبریدهای NZB و موش‌های سفید نیوزلند (NZW) به صورت خودبه خودی بیماری خود ایمنی را بارز می‌کنند که بسیار شبیه لوپوس اریتماتوز سیستمیک می‌باشد. در موش‌های NZB، به صورت خودبه‌خودی بین ۲ تا ۴ ماهگی آنمی‌هولیتیک خود ایمن ایجاد می‌شود، که در آن زمان اتوآنتی‌بادی‌های متنوعی علیه گلبول‌های قرمز، پروتئین‌های هسته‌ای، DNA و لنفوسیت‌های T قابل تشخیص می‌باشد. در حیوانات هیبرید نسل اول،

www.bbooks.ir

گلومرولونفریت در اثر رسوب مجموعه‌های ایمنی درکلیه ایجاد شده و بـه صـورت زودرس در سن ۱۸ ماهگی می‌میرند. همانند SLE انسانی، وقوع خود ایمنی در هیبریدهای نسل اول (NZB×NZW) در ماده‌ها بیشتر می‌باشد.

یک شکل شدید و تسریع شده از بیماری خـود ایمـن سیسـتمیک مشـابه SLE، در نـژاد MRL/lpr/lpr موشی ایجاد می‌شود. این موش‌ها برای ژن lpr هموزیگوت بوده که به عنوان ژن ناقص Fas شناخته می‌شود. محصول ژن Fas، یک پروتئین سطحی متعلـق بـه خـانواده TNF و از پذیرنده‌های غشایی غنی از سیتئین می‌باشد (شکل ۶d-۱۲). هنگامی که پروتئین طبیعی Fas با لیگاند خود میانکنش می‌دهد، پیامی را منتقل مـی‌کنـد کـه منجـر بـه مـرگ سلول‌های حامل Fas می‌شود. این مکانیسم ممکن است با بـه کـارگیری برخـی از CTLهـا موجب تخریب سلول‌های هدف گردد. همچنین Fas برای مرگ سلول‌هـای $CD4^+$ محیطـی بیش از حد فعال شده ضروری می‌باشد. در حالت طبیعی، هنگامی که سلول‌های T محیطـی فعال می‌شوند، بیان هر دو مولکول Fas و لیگاندش در آنها القا می‌گـردد. بـا اتصـال سـلول حاوی Fas به سلول فعال شده مجاورش که دارای لیگاند Fas مـی‌باشـد، در سـلول حـاوی Fas، مرگ القا می‌شود (شکل ۱۹-۱۰). همچنین ممکن است که لیگاند Fas به مولکول Fas در یک سلول متصل شود که منجر به خودکشی سلولی خواهد شد. درغیاب Fas ، سلول‌های T بالغ محیطی، نمی‌میرند و این سلول‌های فعال شده بـه تکثیـر و تولیـد سـایتوکاین ادامـه می‌دهند که به بزرگی زیاد طحال و غدد لنفاوی منجر می‌شود. در انسان‌ها نیز نقایص بیـان Fas، مانند آن چیزی که در موش‌های lpr وجود دارد، به چشم می‌خورد که می‌تواند نتـایج شدیدی در پی داشته باشد. هر چند که، ارتباطی میان بیان Fasو SLE در انسان‌هـا وجـود نداشته و به نظر می‌رسد که موش‌های lpr مدل صحیحی برای SLE نمی‌باشند.

مدل حیوانی مهم دیگر، موش‌های دیـابتی غیـر چـاق (NOD) هسـتند کـه بـه صـورت خودبه‌خود، دچار نوعی از دیابت می‌گردند که مشابه دیابت ملتیوس وابسته به انسـولین در انسان (IDDM) می‌باشد. همانند بیماری انسانی، بیماری موش‌های NOD نیـز بـا ارتشـاح

www.bbooks.ir

لنفوسیتی به داخل جزایرپانکراس آغاز می‌شود. همچنین، مانند IDDM، یک ارتباط قوی میان آلل‌های خاص MHC و ایجاد دیابت در این موش‌ها وجود دارد. آزمایشات نشان می‌دهند که سلول‌های T موش‌های دیابتی قادرند که بیماری را به موش‌های غیردیابتی منتقل کنند. برای مثال، هنگامی که سیستم ایمنی موش‌های طبیعی، در اثر دوزهای کشنده اشعه x تخریب شوند و سپس با تزریق سلول‌های مغز استخوان از موش‌های NOD، دوباره سازماندهی و بازسازی شوند، در این موش‌ها دیابت ایجاد می‌گردد. به طور حتم، تخریب سیستم ایمنی موش‌های NOD توسط اشعه x و بازسازی مجدد آن توسط سلول‌های مغز استخوان طبیعی، به شکل‌گیری دیابت در این موش‌ها نخواهد انجامید. در مطالعات متنوع، نقش اساسی سلول‌های $CD4^{+}T$ در موش NOD به اثبات رسیده است و شواهد اخیر دال بر نقش زیر رده T_H1 در شکل‌گیری بیماری می‌باشد.

چندین بیماری خود ایمن دیگر درحیوانات کشف شده‌اند که به عنوان مدلی جهت شبیه‌سازی بیماری‌های انسانی به کار می‌روند. یکی از این مدل‌ها، جوجه‌های نژاد Obese یا چاق می‌باشند که علیه تیروگلبولین واکنش هومورال و سلولی نشان می‌دهند و مشابه تیروئیدیت هاشیموتو در انسان می‌باشند.

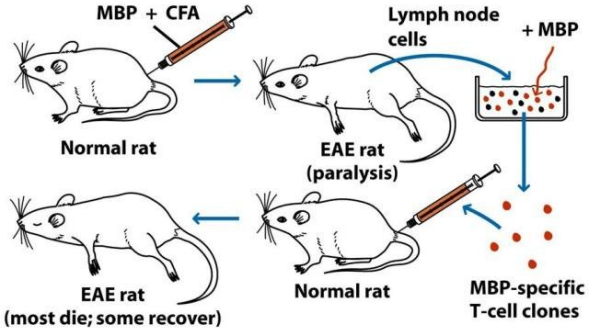
- خود ایمنی را می‌توان به صورت تجربی در حیوانات القا نمود

اختلالات خود ایمنی مشابه با بیماری‌های خود ایمن انسانی، به صورت تجربی در برخی از حیوانات ایجاد شده‌اند (جدول ۲-۱۶). یکی از اولین مدل‌های حیوانی در سال ۱۹۷۳، هنگامی که خرگوش‌ها با پذیرنده استیل‌کولین مارماهی ایمونیزه شدند، کشف شد. در این حیوانات، ضعف عضلانی سریع مشابه آنچه در بیماری میاستنی‌گراویس دیده می‌شود، ایجاد شد. این میاستنی‌گراویس تجربی (EAMG) در نتیجه آنتی‌بادی‌های ضد پذیرنده استیل‌کولین بیگانه (و واکنش متقاطع آنها با پذیرنده‌های استیل‌کولین میزبان) ایجاد می‌شود که تحریک ماهیچه ها توسط استیل‌کولین را مهار می‌کنند. در طی یک‌سال، با کشف این که

www.bbooks.ir

اتوآنتی‌بادی‌های ضد پذیرنده استیل‌کولین، عامل میاستنی‌گراویس در انسان می‌باشند، ارزش این مدل حیوانی زیاد شد.

آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (EAE) یکی از بهترین مدل‌های حیوانی برای بیماری‌های خود ایمن می‌باشد. EAE تنها با واسطه سلول‌های T ایجاد می‌شود ودر گونه‌های مختلف، در اثر ایمونیزاسیون با پروتئین اصلی میلین (MBP) یا پروتئین پروتئولیپید (PLP) در ادجوانت کامل فروند القا می‌گردد. (شکل ۱۱-۱۶).



شکل ۱۱-۱۶: آنسفالیت خودایمن تجربی (EAE) را می توان در رت ها با تزریق MBP همراه با ادجوانت کامل فروند القا نمود.

طی دو تا سه هفته، ارتشاح سلولی در غلاف‌های میلینی سیستم اعصاب مرکزی حیوانات دیده می‌شود که منجر به تخریب میلین و فلجی می‌گردد. اکثر این حیوانات می‌میرند، ولی برخی از آنها علائم خفیف‌تری نشان می‌دهند که مشابه MS مزمن و عود شونده در انسان می‌باشد. حیواناتی که بهبود بیابند، در اثر ترزیق بعدی MBP و ادجوانت به بیماری مبتلا نمی‌گردند.

مدل موشی EAE سیستمی را جهت آزمایشات درمانی برای انسان‌ها فراهم می‌کنند. برای مثال، بدلیل این که کلون‌های سلول T اختصاصی MBP یا PLP در اعضای محیطی دیده می‌شوند، فرض بر این است که این کلون‌ها از مراحل گزینش منفی در تیموس فرار

www.bbooks.ir

کرده‌اند. آزمایشات اخیر بر روی موش‌ها نشان می‌دهند که تجویز خوراکی MBP ممکن است باعث تحمل به خود این کلون‌های T اختصاصی گردد. این مطالعات، راه را برای آزمایشات بالینی در بیماران MS هموار می‌کنند.

تیروئیدیت خودایمن تجربی (EAT) در اثر ایمونیزاسیون تعدادی از حیوانات با تیروگلبولین همراه با ادجوانت کامل فروند، ایجاد می‌گردد. آنتی‌بادی‌های خونی و سلول‌های T_H1 که علیه تیروگلبولین تشکیل می‌شوند، هر دو در شکل‌گیری التهاب تیروئید دخالت دارند. به نظر می‌رسد که EAT بهترین تقلید را از تیروئیدیت‌هاشیموتو می‌کند. برخلاف EAE و EATکه هر دو در اثر ایمونیزاسیون با آنتی‌ژن‌های خودی ایجاد می‌شوند، آرتریت خود ایمن (AA) در اثر ایمونیزاسیون رت با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس موجود در ادجوانت کامل فروند ایجاد می‌گردد. این حیوانات به آرتریتی دچار می‌شوند که مشخصات آن شبیه آرتریت روماتوئید انسانی می‌باشد.

شواهد دخالت سلول‌های $CD4^+T$ ، MHC و TCR درخود ایمنی

پاسخ نامناسب به آنتی‌ژن‌های خودی که مشخصه تمام بیماری‌های خود ایمن می‌باشد، هر دو شاخه هومورال و سلولی پاسخ‌های ایمنی را شامل می‌شود. شناسایی نقایصی که منجر به بیماری‌های خود ایمن در انسان می‌گردند، مشکل می‌باشد؛ و تعیین نقایص ایمنی، در مدل‌های حیوانی با موفقیت بیشتری همراه بوده است. در تمام مدل‌های حیوانی، سلول $CD4^+T$، واسطه اولیه بیماری خود ایمنی می‌باشد. برای مثال، شواهدی نسبتاً محکم مبنی بر این که سلول‌های $CD4^+T$، عامل ایجاد EAE می‌باشند، در دست می‌باشد. توسط انتقال سلول‌های T، از حیوانات ایمونیزه شده با MBP یا PLP می‌توان بیماری را به حیوان دیگر منتقل کرد. همچنین مشخص شده که درمان حیوانات با آنتی‌بادی‌های ضد CD4 موجب مهار بیماری می‌گردد. این اطلاعات، شواهد محکمی برای دخالت سلول‌های $CD4^+T$ در ایجاد EAE می‌باشند.

www.bbooks.ir

البته شناسایی آنتی‌ژن توسط سلول T شامل یک مجموعه ۳ مولکولی بوده که از پذیرنـده سلولT، مولکول MHC و یک پپتید آنتی‌ژنی تشکیل شده است (شکل ۱۴-۹). بنابراین، یک فرد مستعد خودایمنی باید دارای مولکول‌های MHC و پذیرنده‌های سلول T قابل اتصال بـه آنتی‌ژن‌های خودی باشد.

- در برخی مدل‌های حیوانی، سلول‌های$CD4^+T$ و تعادل T_H1/T_H2 نقش مهمی در خود ایمنی دارند

کلون‌های سلول T خودایمن، بوسیله کشت لنفوسیت‌هـای حیوانـات خـودایمن در حضـور فاکتورهای رشد سلول T و القای تکثیر کلون‌های خود ایمن اختصاصی در اثر اتـوآنتی‌ژن‌هـا بدست آمده‌اند. برای مثال، هنگامی که سلول‌های غدد لنفاوی رت‌های EAE در شرایط in vitro با MBP کشت داده شوند، کلون‌های سلول T فعال شده پدیدار می‌شـوند. وقتـی کـه تعداد کافی از این کلون‌های سلول T اختصاصی MBP به صورت داخل وریدی به حیوانات همژن تزریق شود، این سلول‌ها از سد خونی- مغزی عبور کرده، موجب تخریب میلین شـده و در طی ۵ روز EAE بسیار سریعی ایجاد می‌کنند (شکل ۱۱-۱۶). یک دستورالعمل تجربی مشـابه جهـت جداسـازی کلـون‌هـای سـلول T اختصاصـی تیروگلبـولین و مایکوبـاکتریوم توبرکولوزیس به ترتیب از حیوانات EAT و AA به کار برده شـده اسـت. در مـوارد ذکـر شده، کلون‌های سلول T، بیماری خود ایمن تجربی را درحیوانـات طبیعـی ایجـاد مـی‌کننـد. بررسی این سلول‌های T مشخص کرد که آنها دارای شاخص سطحی CD4 مـی‌باشـند. در برخی از مدل‌های حیوانی خود ایمنی، امکان بهبودی بیمـاری پـس از تخلیـه سـلول‌هـای T توسط آنتی‌بادی‌های ضد CD4 وجود دارد. برای مثال، تزریق‌های هفتگـی آنتـی‌بـادی‌هـای منوکلونـال ضـد CD4، علائـم خـود ایمنـی را در نسـل اول مـوش‌هـای NZBXNZW و موش‌های مبتلا به EAE از بین می‌برند.

www.bbooks.ir

در اکثر موارد، خود ایمنی مختص عضو ناشی از سلول‌های $CD4^+T$ خود واکنشگر می‌باشد. تجزیه و تحلیل این سلول‌ها مشخص کرد که تعادل T_H1/T_H2 می‌تواند در ایجاد خود ایمنی مؤثر باشد. سلول‌های T_H1 در شکل‌گیری خود ایمنی دخالت دارند، در حالی که در بعضی موارد، سلول‌های T_H2 نه تنها علیه ایجاد بیماری نقش حفاظتی دارند، بلکه از پیشرفت بیماری شکل‌گرفته نیز جلوگیری می‌کنند. برای مثال، مطالعات ایمونوهیستولوژیک EAE نشان دادند که در مراحل شدت بیماری، سایتوکاین‌های T_H1 (IL-2، TNF-α و IFN-γ) در بافت‌های سیستم اعصاب مرکزی حاضرند. علاوه برآن، کلون‌های سلول $CD4^+T$ اختصاصی MBP تولید شده در مدل‌های حیوانی EAE، همان‌طور که در شکل ۱۱-۱۶ نشان داده شده، به کلون‌های T_H1 و T_H2 تقسیم می‌شوند. آزمایشات نشان داده‌اند که تنها کلون‌های T_H1 قادر به انتقال EAE به موش‌های طبیعی سالم می‌باشند،در حالی که کلون‌های T_H2 نه تنها EAE را به موش‌های سالم انتقال نمی‌دهند، بلکه موش‌ها را در برابر ایجاد EAE در اثر ایمونیزاسیون با MBP و ادجوانت محافظت می‌کنند.

آزمایشاتی که ارزیابی کننده نقش سایتوکاین‌های مختلف یا مهار کننده‌های سایتوکاین‌ها در ایجاد EAE هستند، شواهد دیگری را برای نقش‌های مختلف سلول‌های T_H1و T_H2 در خود ایمنی فراهم می‌کنند. هنگامی که در زمان ایمونیزاسیون موش‌ها با MBP و ادجوانت، IL-4 به آنها تزریق شود، از شکل‌گیری EAE جلوگیری می‌شود، در حالی که تجویز IL-12 تأثیر معکوس داشته و موجب پیشرفت EAE می‌گردد. همان‌طور که در فصل ۱۲ عنوان شد، IL-4 تکامل سلول‌های T_H2 و IFN-γ علاوه بر سایر سایتوکانی‌ها مثل IL-12 در تکامل سلول‌های T_H1 را شدت می‌بخشند (شکل ۱۲-۱۲). بنابراین، تأثیرات مشاهده شده IL-4 و IL-12 برای ایجاد EAE در راستای نقش سلول‌های T_H1 در شکل‌گیری خود ایمنی می‌باشند.

www.bbooks.ir

- خود ایمنی می‌تواند با پذیرنده‌های سلول T خاص یا MHC مرتبط باشد

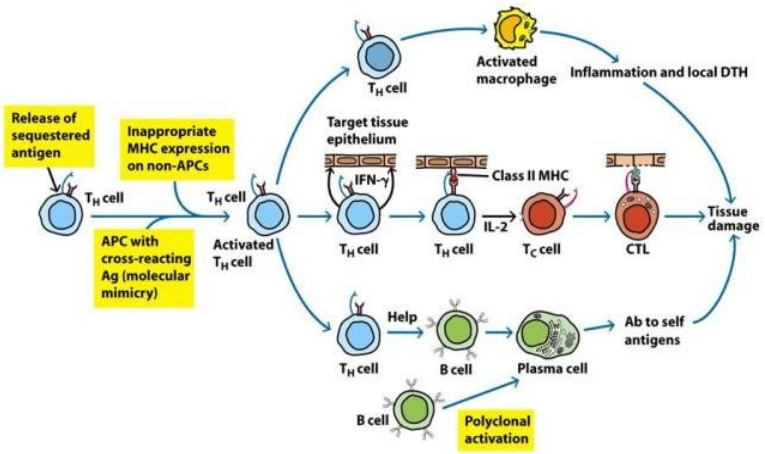
مطالعات متعددی از ارتباط بین بیان آلل‌های خاصی از MHC و استعداد ابتلا به خودایمنی حمایت می‌کنند. قوی‌ترین ارتباط بین آلل MHCو یک بیماری خود ایمن در اسپوندیلیت آنکیلوزان که یک بیماری التهابی مفاصل ستون‌مهره‌ها می‌باشد، دیده شده است. احتمال ابتلای افراد دارای HLA-B27 ، ۹۰ بار بیشتر از افراد دارای آلل‌های متفاوت HLA-B می‌باشد. علیرغم وجود چنین ارتباطی نمی‌توان این طور تفسیر کرد که بیان آلل خاصی از MHC علت ایجاد خودایمنی می‌باشد، زیرا ارتباط میان آلل‌های MHC و ایجاد بیماری خود ایمن، پیچیده می‌باشد. نکته جالب توجه این است که برخلاف بسیاری از بیماری‌های خود ایمن دیگر، ۹۰٪ موارد اسپوندیلیت آنکیلوزان در مردان دیده می‌شوند.

حضور پذیرنده‌های سلولT حاوی دومن‌های Vα و Vβ مشخص نیز با برخی از بیماری‌های خود ایمن ارتباط دارد، که شامل EAE و نوع انسانی آن یا مولتیپل اسکلروزیس می‌باشند. در یک تحقیق، سلول‌های T اختصاصی پپتیدهای متنوع MBP، کلون شدند و پذیرنده‌های آنها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مثال، در اثر کشت سلول‌های T موش‌های PL/J همراه با نانوپپتیدهای استیله شده انتهای آمینیMBP، کلون‌هایی از سلول‌های T این موش‌ها بدست آمدند که با تجزیه و تحلیل TCR آنها مشخص گردید، دومن‌های Vα و Vβ گنجینه محدودی دارند، ۱۰۰٪ این کلون‌های سلولT Vα 4.3 و ۸۰٪ کلون‌های سلول T Vβ 8.2 را بیان می‌کنند. در بیماری‌های خود ایمن انسانی نیز شواهدی برای بیان محدود TCRها بدست آمده‌اند که برای مثال می‌توان به مولتیپل‌اسکلروزیس و میاستنی‌گراویس اشاره کرد. بیان انتخابی ژن‌های ناحیه متغیر TCR در این کلون‌های سلول T خود ایمن نشان می‌دهد که یک اپی‌توپ منفرد ممکن است منجر به گسترش کلونی تعداد کمی از سلول‌هایT پاتوژن گردد.

www.bbooks.ir

- مکانیسم‌های پیشنهادی ایجاد خود ایمنی

مکانیسم‌های متنوعی برای توجیه شکل‌گیری بیماری‌های خود ایمن با واسطه سلول‌های T پیشنهاد شده‌اند (شکل ۱۲-۱۶).



شکل ۱۲-۱۶: مکانیسم های پیشنهادی برای القای پاسخ های خودایمنی

برای هر کدام از این مکانیسم‌ها، شواهدی در دست می‌باشد و این احتمال وجود دارد که خود ایمنی در اثر یک رویداد منفرد ایجاد نگردد و درعوض، تعدادی از وقایع مختلف در ایجاد آن دخالت داشته باشند.

علاوه برآن، استعداد ابتلا به بسیاری از بیماری‌های خود ایمن میان دو جنس با هم تفاوت دارند. همان‌طور که قبلاً بیان شد، تیروئیدیت‌هاشیموتو، لوپوس اریتماتوز سیستمیک، مولتیپل‌اسکلروزیس، آرتریت‌روماتوئید و اسکلرودرما ترجیحاً زنان را تحت تأثیر قرار می‌دهند. عواملی که به عنوان دلایل این استعداد انتخابی بیان شده‌اند، عبارتند از تفاوت هورمونی میان دو جنس و آثار بالقوه سلول‌های جنینی در گردش خون مادر حین‌بارداری که در قسمت تمرکز بالینی در مورد آن بحث می‌شود.

www.bbooks.ir

- آزاد شدن آنتی‌ژن‌های مخفی می‌تواند به ایجاد خود ایمنی منجر شود

همان‌طور که در فصل ۱۰ بحث شد، القای تحمل به خود در سلول‌های Tنتیجه مواجهه تیموسیت‌های نابالغ با آنتی‌ژن‌های خودی و حذف کلونی سلول‌های T خودواکنشگر، ایجاد می‌شود. همان‌طور که در بالا ذکر شد، هرگونه از آنتی‌ژن‌های بافتی که از گردش خون به دور باشند، توسط سلول‌های T در حال تکامل دیده نشده و تحمل به خود نیز در مورد آنها ایجاد نمی‌شود. برخورد سلول‌های T بالغ با چنین آنتی‌ژن‌هایی که بصورت طبیعی مخفی شده‌اند، ممکن است به فعال شدن آنها بیانجامد.

پروتئین اصلی میلین (MBP) نمونه‌ای از آنتی‌ژن‌های مخفی از سیستم ایمنی می‌باشد که در این مورد سدخونی – مغزی مانع دسترسی سیستم ایمنی به این پروتئین می‌گردد. در مدل EAE، MBP همراه با ادجوانت، مستقیماً به حیوانات تزریق می‌گردد تا حداکثر برخورد ایمنی صورت گیرد. در این نوع از مدل‌های حیوانی، سیستم ایمنی تحت شرایط غیرفیزیولوژیک با آنتی‌ژن‌های مخفی خودی مواجه می‌شود؛ هر چند که آسیب بافتی در اثر تصادف یا عفونت‌های ویروسی یا باکتریایی نیز می‌تواند باعث آزاد شدن آنتی‌ژن‌های مخفی در جریان خون گردد. تعداد کمی از آنتی‌ژن‌های بافتی، در این دسته قرار می‌گیرند. برای مثال، اسپرم، دیر تکامل می‌یابد و از گردش خون مخفی می‌باشد. هر چند که پس از وازکتومی، برخی از آنتی‌ژن‌های اسپرم به جریان خون راه یافته و قادرند در برخی از مردان، تولید اتوآنتی‌بادی‌ها را القا کنند. به همین صورت، آزاد شدن پروتئین‌های عدسی پس از آسیب چشمی یا آنتی‌ژن‌های ماهیچه قلب پس از انفارکتوس میوکارد منجر به شکل‌گیری اتوآنتی‌بادی‌ها می‌شود. اطلاعات نشان می‌دهند که تزریق آنتی‌ژن‌های مخفی طبیعی به تیموس، می‌تواند از شکل‌گیری بیماری های خود ایمن مختص بافت در مدل‌های حیوانی جلوگیری کند. به عنوان مثال، تزریق داخل تیموسی سلول‌های بتای جزایر پانکراس، از شکل‌گیری خودایمنی در موش‌های NOD جلوگیری می‌کند. به علاوه، تزریق زودهنگام MBP به تیموس رت‌های مستعد مانع از ایجاد EAE می‌گردد. در این آزمایشات، مواجهه

www.bbooks.ir

سلول های T نابالغ با آنتی‌ژن‌های خودی که درحالـت طبیعـی در تیمـوس حضـور ندارنـد، احتمالاً موجب تحمل به این آنتی‌ژن‌ها می‌گردد.

تمرکز بالینی

- چرا زنان در ابتلا به خودایمنی مستعدتر از مردان می‌باشند؟ تفاوت‌های جنس در بیماری خود ایمن

نزدیک به ۹ میلیون نفر در ایالات متحده به بیماری خودایمنی مبـتلا هسـتند کـه تقریبـاً ۶/۷ میلیون نفر آنها را زنان تشکیل می‌دهند. این استعداد ابتلا در برخی بیماری‌هـا بیشـتر می‌باشد. برای مثال، نسبت ابتلای زنان به مردان در بیماریهای مثـل مولتیپـل‌اسـکلروزیس (MS) یا آرتریت روماتویئد (RA) تقریباً دو تا سـه زن بـه یـک مـرد و در مـورد لوپـوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) ۹ به ۱ می‌باشد. به هرحال، این آمارها نشان دهنده کل داستان نمی‌باشند. زیرا در برخی از بیماری‌های مثل MS، شدت بیماری در مـردان بـیش از زنـان می‌باشد. این که زنان استعداد بیشتری در ابتلا به بیماری‌های خودایمن دارند، چندین سـال است که مشخص شده ولی دلایل این افزایش خطر تاکنون بـه صـورت کامـل درک نشـده است. برخی از توضیحات ممکن در زیر آمده است.

علیرغم این که ممکن است غیر محتمل به نظر برسد ولی شواهد زیادی نشان مـی‌دهنـد که تفاوت‌های جنسی در پاسـخ‌هـای ایمنـی انسـان‌هـا و مـوش هـا وجوددارنـد. مطالعـات ایمونیزاسیون در هر دو گونه نشان می‌دهنـد کـه مـاده‌هـا نسـبت بـه نرهـا تیتربـالاتری از آنتی‌بادی‌ها را تولید می‌کنند. در حقیقت، ماده‌ها معمولاً تمایل به پاسخ‌های ایمنی شدیدتری دارند و در مورد انسان نیز به خصوص خانم‌های جوان این چنین می‌باشند. زنان تمایـل بـه داشتن سطوح بالاتری از سلول‌های $CD4^{+}T$ دارند و سطوح سرمی IgM در آنهـا بـه طـور معناداری بالاتر می‌باشد.

www.bbooks.ir

در موش‌ها که تفاوت‌های جنسی، ساده‌تر مورد مطالعه قرار می‌گیرد، تفاوت‌های جنسی در پاسخ‌های ایمنی در نتایج حاصل از اکثر آزمایشات آورده شده است. موش‌های ماده در ایجاد پاسخ‌های T_H1 قوی‌تر از موش‌های نر عمل کرده و نسبت به عفونت‌هایی که در آنها پاسخ‌های پیش‌التهابی T_H1 سودمند می‌باشند، مقاومت بیشتری نشان می‌دهند. مثال بسیار مناسب، عفونت با SVS ، HSV و TMEV می‌باشد. پاکسازی این ویروس‌ها توسط پاسخهای T_H1 صورت می‌گیرد. هر چند که در برخی موارد، پاسخ پیش‌التهابی می‌تواند زیان بار نیز باشد، برای مثال پاسخ T_H1 به ویروس کوریومننژیت لنفوسیتی (LCMV) با فرم شدید بیماری ارتباط دارد. بنابراین، موش‌های ماده با احتمال بیشتری در اثر ابتلا به LCMV از پای در می‌آیند. در حقیقت، اهمیت جنس در عفونت LCMV از آزمایشاتی مشخص گردید که در آنها نشان داده شد که موش‌های نر اخته شده از نظر رفتار ایمونولوژیک، مشابه ماده بوده و نسبت به موش‌های اخته نشده، در اثر عفونت با احتمال بیشتری از پای در می‌آیند. بیماری دیگری که در آن جنسیت اهمیت دارد، عفونت با ویروس کوکساکی نوع B-3 (CVB-3)می‌باشد که عامل میوکاردیت ایمنی است. موش های نر نسبت به ماده‌ها به این بیماری حساس‌تر می‌باشند. CVB-3 موجب القای یک پاسخ T_H1 غالب در نرها می‌گردد. در حالی که بر خلاف آنچه در بالا گفته شد، به صورت پاسخ‌های حفاظتی T_H2 پاسخ می‌دهند. با تزریق تستوسترون به موش‌های ماده، پاسخ‌های آنها تغییر کرده و به بیماری مستعد می‌شوند. به علاوه، تزریق استرادیول به موش‌های نر موجب تغییر پاسخ‌های آنها و مقاوم شدنشان به ویروس می‌گردد. براساس این اطلاعات، احتمالاً میان پاسخ‌های موش‌های نر و ماده تفاوتهای اساسی وجوددارد. هر چند که، تفاوت‌های جنسیتی مشاهده شده در موش را نمی‌توان در مورد جمعیت‌های انسانی گسترش داد.

این تفاوت‌های جنسیتی چگونه ایجاد می‌شوند؟ استرادیول و تستوسترون می‌توانند نتیجه عفونت با CVB-3 را تغییر دهند که نشان دهنده نقش مهم هورمون‌های جنسی می‌باشد.

www.bbooks.ir

در انسان‌ها، استروژن به تنهایی نقش مهمی در اتیولوژی RA یا MS ندارد اما ممکن است در SLE اهمیت داشته باشد. استروژن می‌تواند تولید اتوآنتی‌بادی‌ها را در موش‌های مستعد SLE تحریک کند و این اثرات را می‌توان توسط ترکیبات ضداستروژنی تعدیل کرد. چنین اطلاعاتی نشان می‌دهند که استروژن حداقل در موش‌ها قادر به شروع خودایمنی شبه SLE می‌باشد. علاوه برآن، آندروژن‌هایی مثل تستوسترون نقش مهمی را در برخی از بیماری‌های خودایمن بازی می‌کنند. موش‌های NOD ماده استعداد بسیار بیشتری برای ابتلا به دیابت‌های خودبخودی دارند و اخته کردن نیز به طور معناداری موجب افزایش استعداد موش‌های NOD نر می‌گردد. موش‌های SJL ماده احتمالاً استعداد بیشتری به EAEکه یک بیماری شبه MS در موش می‌باشد، دارند. این نشان می‌دهد که تستوسترون می‌تواند در برخی از بیماری‌های خودایمن زیان‌بار بوده و همچنین در بعضی از بیماری‌های خودایمن دیگر مثل MS، دیابت ، SLE و سندرم شوگرن؛ محافظت کننده باشد.

چرا استروئیدهای جنسی، پاسخ‌های ایمنی را تحت تأثیر قرارمی‌دهند؟ این به خوبی مشخص نشده، اما احتمالاً این هورمون‌ها که در تمام بدن گردش دارند، با تغییر دادن الگوی بیان ژن‌ها، پاسخ‌های ایمنی را تغییر می‌دهند. استروئیدهای جنسی که ترکیبات به شدت چربی دوستی می‌باشند، با عبور از غشای سلولی و اتصال به یک پذیرنده سیتوپلاسمی عمل خود را انجام می‌دهند. اتصال هورمون به گیرنده موجب فعال شدن و در برخی موارد سرکوب بیان ژن‌ها می گردد. این عمل با اتصال پذیرنده مجموعه هورمون- پذیرنده به یک توالی خاص DNA صورت می‌گیرد. بنابراین، استروژن وارد سلول می‌شود، به پذیرنده استروژن اتصال می‌یابد، و موجب اتصال پذیرنده استروژن به یک توالی خاص DNA می‌گردد که آن نیز به نوبه خود منجر به تنظیم نسخه‌برداری می‌شود. پس در سلول‌های حاوی پذیرنده‌های هورمونی خاص، هورمون‌های جنسی قادر به تنظیم بیان ژن بوده و با احتمال فراوان، این هورمون‌ها از طریق پذیرنده‌هایشان نقش مهمی را در سیستم ایمنی بازی می‌کنند. این که سلول‌های مختلف سیستم ایمنی دارای پذیرنده‌های هورمونی هستند، هنوز

www.bbooks.ir

مشخص نمی‌باشد. به منظور آگاهی یافتن از این که هورمون‌های جنسی چگونه بر پاسخ‌های ایمنی تأثیر دارند، باید ابتدا مشخص کنیم که کدام سلول چه پذیرنده‌های هورمونی را بیان می‌کند.

تأثیرات هورمونی بر پاسخ‌های ایمنی ممکن است تنها به هورمون‌های استروئیدی جنسی محدود نشوند. پرولاکتین هورمونی است که در زنان سطوح بالاتری نسبت به مردان داشته و عضوی از خانواده هورمون‌های استروئیدی جنسی نمی‌باشد. هر چند که ترشح پرولاکتین (توسط هیپوفیز قدامی) توسط استروژن تحریک می‌شود و این موضوع علت سطوح بالاتر پرولاکتین در زنان و همچنین مقادیر بسیار بالای آن حین بارداری می‌باشد. پرولاکتین تأثیر عمیقی بر پاسخ‌های ایمنی دارد و همان‌طور که در موش‌ها نشان داده شده است، برداشتن هیپوفیزقدامی منجر به سرکوب ایمنی شدیدی می‌گردد که با تجویز پرولاکتین خارجی درمان می‌شود. حضور پذیرنده‌های پرولاکتین بر روی سلول‌های B و T محیطی انسانی شواهد دیگری هستند برای نشان دادن این که این هورمون می‌تواند در تنظیم پاسخ‌های ایمنی نقش داشته باشد. در حقیقت، برخی شواهد نشان می‌دهند که پرولاکتین تمایل دارد تا سلول‌ها را به سمت پاسخ‌های ایمنی T_H1 سوق دهد.

حاملگی می‌تواند سرنخی برای پی‌بردن به چگونگی تنظیم ایمنی توسط جنسیت باشد. با وجودی که زنان در حالت طبیعی علیه آنتی‌ژن‌های بیگانه پاسخ می‌دهند، طی‌بارداری، تحمل جنین توسط مادر حیاتی بوده که در واقع یک پیوند بیگانه محسوب می گردد. احتمال زیادی وجود دارد که در سیستم ایمنی مادر هنگام بارداری تغییرات مهمی ایجاد شود. یادآوری می‌شود که زنان بیشتر تمایل به پاسخ‌های T_H1 دارند تا T_H2 هر چند که زنان در هنگام بارداری پاسخ‌های T_H2 بیشتری ایجاد می‌کنند. تصور بر این است که سطوح هورمون‌های جنسی مربوط به بارداری، منجر به شکل‌گیری یک محیط ضد التهابی می‌گردند. در این رابطه، توجه به این که بیماری‌های ایجاد شده توسط پاسخ‌های T_H2 مثل

www.bbooks.ir

SLE، هنگام بارداری تشدید می‌شوند و بیماری‌های مثل RA و MS که شامل پاسخ‌های التهابی می‌باشند بعضی اوقات در زنان باردار بهبود می‌یابند، جالب می‌باشد.

اثر دیگر بارداری، حضور سلول‌های جنینی در جریان خون مادر می‌باشد. این سلول‌ها می‌توانند تا دهها سال در گردش خون مادر باقی بمانند و این سلول‌های طویل‌العمر جنینی ممکن است نقش مهمی در شکل‌گیری بیماری خودایمن داشته باشند. علاوه بر آن، تبادل سلول‌ها هنگام بارداری دو طرفه می‌باشد (ممکن است سلول‌های مادر نیز در گردش خون جنین تظاهر یابند)، پس حضور سلول‌های مادر در گردش خون فرزند پسر نیز می‌تواند عامل برای بیماری خودایمن باشد.

به صورت خلاصه، زنان و مردان دارای تفاوت معنادار در توانایی ایجاد یک پاسخ ایمنی هستند. زنان پاسخ‌های ایمنی قدرتمندتری را نشان می‌دهند و پاسخ‌ها بیشتر شبیه T_H1 می‌باشند. نقش تحریک‌کنندگی ایمنی استروژن درگزارشاتی مطرح شده که می‌تواند بدلیل توانایی هورمون در تنظیم بیان ژن‌های اختصاصی از طریق پذیرنده استروژن باشد. به علاوه، وقوع خودایمنی در زنان بسیار بیشتر از مردان می‌باشد. این مشاهدات، منجر به ایجاد این فرضیه شده که تمایل زنان به ایجاد پاسخ‌های شبه T_H1 می‌تواند دلیل برخی از تفاوت‌های استعداد ابتلا به خودایمنی باشد. این که تمایل به سمت پاسخ T_H1، به دلیل تفاوت‌های هورمون‌های استروئیدی جنسی میان زنان ومردان است. قطعیت کمی دارد ولی در چند سال آینده، آزمایشاتی که منجر به مشخص شدن این نظریه شوند، شدیداً پیگیری خواهند شد.

- تقلید مولکولی ممکن است منجر به خود ایمنی گردد

این که گفته می‌شود عوامل ویروسی یا میکربی نقش در خودایمنی ایفا می‌کنند، به چند دلیل، جالب می‌باشد. به خوبی پذیرفته شده که جمعیت‌های انسانی مهاجر به بیماری‌های منطقه‌ای که به آن مهاجرت می‌کنند، مبتلا می‌شوند و این که هر چه جابه‌جایی جمعیتی

www.bbooks.ir

بیشتر باشد، وقوع خود ایمنی نیز به طور چشمگیری افزایش پیدا می‌کند. این موضوع همراه با این واقعیت که تعدادی از ویروس‌ها و باکتری‌ها دارای شاخص‌های آنتی‌ژنی یکسان یا مشابه با اجزای سلول میزبان دارند، مایکل اولدستون[1] را به سمت طرح این موضوع که یک عامل بیماریزا ممکن است اپی‌توپ پروتئین را بیان کند که از نظر توالی اولیه یا ساختمان از اجزای ساختمانی خودی تقلید کند، راهنمایی کرد. چنین تقلید مولکولی در طیف وسیعی از ارگانیسم‌ها دیده می‌شود (جدول ۳-۱۶).

TABLE 16-3 Molecular mimicry between proteins of infectious organisms and human host proteins

Protein*	Sequence†
Human cytomegalovirus IE2	79 P D P L G R P D E D
HLA-DR molecule	60 V T E L G R P D A E
Poliovirus VP2	70 S T T K E S R G T T
Acetylcholine receptor	176 T V I K E S R G T K
Papilloma virus E2	76 S L H L E S L K D S
Insulin receptor	66 V Y G L E S L K D L
Rabies virus glycoprotein	147 T K E S L V I I S
Insulin receptor	764 N K E S L V I S E
Klebsiella pneumoniae nitrogenase	186 S R Q T D R E D E
HLA-B27 molecule	70 K A Q T D R E D L
Adenovirus 12 E1B	384 L R R G M F R P S Q C N
α-Gliadin	206 L G Q G S F R P S Q Q N
Human immunodeficiency virus p24	160 G V E T T T P S
Human IgG constant region	466 G V E T T T P S
Measles virus P3	13 L E C I R A L K
Corticotropin	18 L E C I R A C K
Measles virus P3	31 E I S D N L G Q E
Myelin basic protein	61 E I S F K L G Q E

*In each pair, the human protein is listed second. The proteins in each pair have been shown to exhibit immunologic cross-reactivity.

†Amino acids are indicated by a single-letter code. Identical residues are shown in blue. Numbers indicate amino acid position in the intact protein.

SOURCE: Adapted from M. B. A. Oldstone, 1987, *Cell* **50**:819.

در یک مطالعه ۶۰۰ آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی برای ۱۱ ویروس مختلف، جهت ارزیابی واکنش‌هایشان علیه آنتی‌ژن‌های خودی؛ آزمایش شدند. بیش از ۳٪ آنتی‌بادی‌های

[1]- Michael Oldstoue

www.bbooks.ir

اختصاصی ویروس مورد آزمایش، به بافت طبیعی نیز اتصال یافتند که این یافته نشان می‌دهد تقلید مولکولی یک پدیده نسبتاً شایع می‌باشد.

تقلید مولکولی یک مکانیسم ایجاد کننده خود ایمنی می‌باشد. یکی از بهترین مثال‌های این‌گونه واکنش‌های خودایمن، آنسفالیت پس از هاری می‌باشد که در برخی افرادی که واکسن هاری دریافت کرده‌اند، ایجاد می‌شود. در گذشته ویروس‌هاری را در کشت سلول‌های مغز خرگوش رشد می‌دادند و واکسن‌های تولید شده حاوی آنتی‌ژن‌های مشتق از سلول‌های مغز خرگوش بودند. در فرد واکسینه شده، این آنتی‌ژن‌ها قادر به القای تشکیل آنتی‌بادی و سلول‌های Tفعال شده می‌باشند که واکنش متقاطع با سلول‌های مغزی فردگیرنده، به آنسفالیت منجر می‌گردد. تصور می‌شود که آنتی‌بادی‌هایی که واکنش متقاطع می‌دهند عامل آسیب قلبی در تب روماتیسمی نیز باشند که برخی اوقات پس از عفونت استرپتوکوکی ایجاد می‌شوند. در این مورد، آنتی‌بادی‌ها ضد آنتی‌ژن‌های استرپتوکوکی بوده ولی با عضله قلب واکنش متقاطع می‌دهند.

- شواهدی از تقلید پپتیدهای ویروسی از MBP در دست می‌باشد

با شناخته شدن پپتیدهای آنسفالیت‌زای MBP، پروتئین‌های سایر ارگانیسم‌ها که از آنها تقلید می‌کنند را می‌توان شناسایی کرد. برای مثال، یک پپتید MBP (بقایای اسیدآمینه‌ای ۶۱ تا ۶۹) شباهت بسیار زیادی با یک پپتید در پروتئین P3 ویروس سرخک دارد (جدول ۳-۱۶). در یک مطالعه توالی پپتید دیگری از MBP (۶۶ تا ۷۵) با توالی‌های شناخته شده تعداد زیادی از پروتئین‌های ویروسی مقایسه شد. این آنالیزهای کامپیوتری ، همسانی توالی این پپتید MBP را با تعدادی از پپتیدهای ویروس‌های حیوانی شامل ویروس‌های آنفولانزا، پولیوما، آدنوویروس، سارکوم روس، لوسمی ابلسون، فلج اطفال، اپشتین – بار و هپاتیت B مشخص کرد.

www.bbooks.ir

یک پپتید از آنزیم پلی‌مراز ویروس هپاتیت B به طور کاملاً چشمگیری دارای تشابه ۶۰ درصدی با توالی پپتید آنسفالیت‌زای MBP می‌باشد. به منظور آزمودن این فرضیه که تقلید مولکولی می‌تواند به خود ایمنی منجر شود، خرگوش‌ها با این پپتید ویروس هپاتیت B ایمونیزه شدند. این پپتید موجب القای تولید آنتی‌بادی و تکثیر سلول‌های T گردید که با MBP واکنش متقاطع می‌دادند. علاوه بر آن، بافت سیستم اعصاب مرکزی خرگوش‌های ایمن‌شده، ارتشاح سلولی را که مشخصه EAE می‌باشد، نشان می‌دادند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که عفونت با ویروس‌های خاصی که اپی‌توپ‌های آنها از اجزای مخفی شده خودی مثل پروتئین اصلی میلین تقلید می‌کنند، می‌توانند خودایمنی به آن اجزا را القا کند. استعداد به این نوع خود ایمنی می‌تواند تحت تأثیر هاپلوتایپ‌های MHC فرد نیز قرار گیرد، زیرا مولکول‌های خاصی از MHCکلاس I و II در عرضه پپتیدهای هومولوگ جهت فعالیت سلول‌های T، از بقیه مؤثرتر می‌باشند.

مطالعه بر روی کراتینیت استرومایی هرپسی (HSK) یکی دیگر از مثال‌های خاص تقلید مولکولی را مشخص کرد. در این مطالعات، محققین نشان دادند که عفونت قبلی موش‌ها با ویروس هرپس‌سیمپلکس نوع ۱ به HSK منجر می‌شود که یک بیماری شبه خودایمن بوده و در آن، سلول‌های T اختصاصی پپتیدخاصی از ویروس به بافت قرنیه حمله کرده و منجر به کوری می‌شوند. این اطلاعات به وضوح نشان دادند که یک اپی‌توپ خاص از HSV-1 مسئول بیماری بوده و سویه‌های موتانت HSV-1 که فاقد این اپی‌توپ می‌باشند، موجب HSK نمی‌گردند.

- بیان نامناسب مولکول‌های MHCکلاس II می‌تواند سلول‌های Tخودواکنشگر را حساس نماید

سلول‌های β پانکراس افراد مبتلا به دیابت ملتیوس وابسه به انسولین (IDDM) مقادیر بالایی از مولکول‌های MHC کلاس I و II را بیان می‌کنند، در حالی که سلول‌های β مقادیر

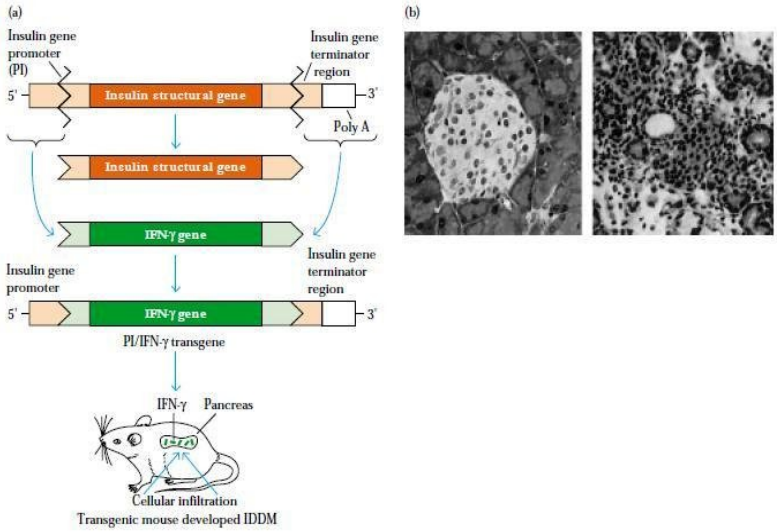
www.bbooks.ir

پایین‌تری از MHC کلاس I را بیان کرده و MHC کلاس II را اصلاً بیـان نمـی‌کننـد. بـه همین ترتیب، نشان داده شده که سلول‌های آسینارتیروئید مردان مبتلا بـه بیمـاری گریـوز مولکول‌های MHC کلاس II را روی سطح غشای خود بارز می‌کننـد، ایـن بیـان نامناسـب مولکول‌های MHCکلاس II که معمولاً فقط روی سلول‌هـای عرضـه کننـده آنتـی‌ژن بیـان می‌شوند، موجب حساس‌سازی سلول‌های T_H در برابر پپتیدهای مشتق شده از سلول‌هـای β و تیروئیدی می‌شود، و باعث فعالیت سلول‌های B یا Tc و یا حساس‌سـازی سـلول‌هـای T_H علیه آنتی‌ژن‌های خودی می‌گردد. یک مدرک دیگر نشان می‌دهد که بعضی مواد می‌تواننـد بیان مولکول‌های MHC کلاس II را در سلول‌هایی که نباید این مولکول‌ها را بارز کنند، القـا کنند. برای مثال، میتوژن سلول‌های T به نام فیتوهماگلوتینین (PHA)، بیان MHCکلاس II را در سلول‌های تیروئیدی القا می‌کند. مطالعـات در شـرایط in vitro آشکـار کردنـد کـه IFN-γ نیز موجب بیان مولکول‌های MHC کلاس II در طیـف وسـیعی از سـلول‌هـا مثـل، سلول‌های β پانکراس، سلول‌های اپی‌تلیال روده‌ای، سلول‌های ملانومـا و سـلول‌هـای آسـینار تیروئید می‌گردد. این فرض وجود داشت که ضربه یا عفونت ویروس در یک عضـو موجـب یک پاسخ التهابی گردد و در نتیجه غلظت IFN-γ در عضوهای تحت تأثیر، افزایش یابد. در صورتی که IFN-γ بیان MHCکلاس II را در سلول‌های غیـر عرضـه کننـده آنتـی‌ژن القـا نماید، فعالیت تا به جای سلول‌های T_H می‌تواند خود ایمنی را به دنبال داشـته باشـد. قابـل توجه است که بیماران مبتلا به SLE فعال، نسبت به بیمـاران مبـتلا بـه SLE غیـر فعـال، سطوح سرمی IFN-γ بالاتری دارند.

یک سیستم جالب از موش‌های ترانس ژنیک، IFN-γ و بیان نامناسب MHC کلاس II را در خود ایمنی نشان می‌دهد. در این سیسـتم، ژن انتقـالی IFN-γ توسـط مهندسـی ژنتیـک دستکاری شد و پروموتر انسولین به آن اضافه گشت. در نتیجه، مـوش‌هـای بـا ژن انتقـالی IFN-γ را از سلول‌های β پانکراسشان ترشح مـی‌کردنـد (شـکل ۱۳a-۱۶). از آنجـایی کـه IFN-γ موجب افزاش بروز MHC کلاس II می‌گردد، این موش‌ها، مولکول MHC کـلاس

www.bbooks.ir

II را روی سلول‌های β پانکراس بیان می‌کردند و به دیابتی دچار می‌شدند که با ارتشاح لنفوسیتی و سلول‌های التهابی، مشابه چیزی که در موش‌های NOD و بیماران مبتلا به IDDM دیده می‌شود، همراه بود (شکل ۱۳b-۱۶).



شکل ۱۳-۱۶: دیابت ملیتوس وابسته به انسولین در موش های ترانس ژنیک. (a) تولید یک موش ترانس ژنیک دارای ترانس ژن IFN-γ متصل به پروموتر انسولین. (b) جزایر لانگرهانس یک موش BALB/c طبیعی (چپ) و یک موش ترانس ژن پس از سه هفته (راست) که نفوذ سلول های التهابی را نشان می دهد.

با وجودی که ممکن است بیان نامناسب MHC کلاس II روی سلول‌های β پانکراس در شکل‌گیری واکنش‌های خودایمن در این موش‌ها نقش داشته باشد، عوامل دیگری نیز می‌توانند در آن مؤثر باشند. برای مثال، IFN-γ به عنوان القا کننده تولید سایتوکاین‌های دیگر مثل IL-1 و TNF شناخته می‌شود. بنابراین، شکل‌گیری خود ایمنی در این سیستم ژن انتقالی، می‌تواند در اثر عرضه آنتی‌ژن توسط مولکول‌های MHC کلاس II همراه با یک پیام کمکی مثل IL-1 که موجب فعال شدن سلول‌های T خود واکنشگر می‌شود، ایجاد شود.

www.bbooks.ir

برخی شواهد نشان می‌دهند کـه IL-1، IFN-γ و TNF مـی‌تواننـد بـه صـورت مسـتقیم،در عملکرد ترشحی سلول‌های β انسانی اخلال ایجاد کنند.

- فعالیت پلی‌کلونال سلول‌های B می‌تواند به خود ایمنی منجر شود

تعدادی از ویروس‌ها و باکتری‌ها می‌توانند موجب فعال شدن پلی‌کلونال و غیر اختصاصـی سلول‌های B گردند. باکتری‌های گرم منفی، سایتومگالوویروس و ویروس اپشتین‌بـار همگـی به عنوان چنین فعال‌کننده‌های پلی کلونالی شناخته می‌شوند که موجب تکثیر چندین کلون از سلول‌های B گردیده و این سلول‌ها در غیاب سلول T_H، IgM را بیان می‌کننـد. در صـورتی که سلول‌های B خودواکنشگر، توسط این مکانیسم فعال شوند، اقدام به تولید اتوآنتی‌بادی‌هـا می‌کنند. برای مثال، طی منونوکلئوز عفونی که توسط EBV ایجاد می‌شود، اتوآنتی‌بادی‌هـای مختلفی مانند اتوآنتی‌بادی‌های واکنش‌دهنده با سلول‌هـای B و T، فاکتورهـای روماتوئیـد و آنتی‌بادی‌های ضدهسته‌ای تولید می‌گردند. در بیماران مبـتلا بـه SLE نیـز لنفوسـیت‌هـای کشت داده شده، اقدام به تولید مقادیر بالای IgM می‌کنند که به نظر می‌رسـد بـه صـورت پلی‌کلونال تحریک شده باشند. تعداد زیادی از بیماران مبتلا بـه AIDS نیـز دارای سـطوح بالایی از آنتی‌بادی‌های غیراختصاصی و اتوآنتی‌بادی‌های ضد RBC و پلاکـت هسـتند. ایـن بیماران اغلب به عفونت‌های دیگری همچون عفونت با ویـروس EBV و CMV نیـز دچـار می‌شوند که می‌توانند به فعال‌شدن پلی‌کلونال سلول‌های B و تولید اتوآنتی‌بادی منجر شوند.

- درمان بیماری‌های خود ایمن

مطلوب‌ترین درمان بیماری‌های خودایمن، کاستن پاسخ‌های خـودایمن بـه تنهـایی، بـدون تأثیر بر سایربخش‌های سیستم ایمنی می‌باشد که تاکنون محقق نشده است.

درمان‌های کنونی خودایمنی، بهبود دهنده نبوده بلکه تنها مسکن هستند و به کاهش علائم کمک می‌کنند تا بیمار به یـک کیفیـت قابـل قبـول بـرای زنـدگی دسـت یابـد. داروهـای

www.bbooks.ir

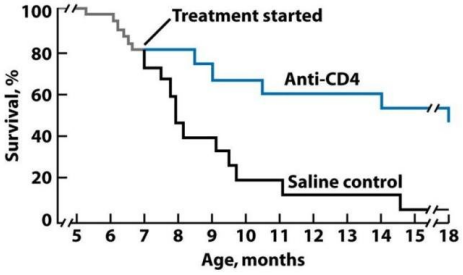
سرکوب‌کننده ایمنی (مثل کورتیکواستروئیدها، آزاتیوپرین و سیکلوفسفامید) اغلب به منظور کاستن سرعت تکثیر لنفوسیت‌ها به کار می‌روند. این داروها در حالت کلی با سرکوب پاسخ ایمنی از شدت علائم خودایمنی می‌کاهند. هر چند که کاهش کلی پاسخ‌دهی ایمنی، خطر عفونت و ایجاد سرطان را در بیماران افزایش می‌دهد. استفاده از سایکلوسپورینA یا FK506 در درمان خود ایمنی تا اندازه‌ای انتخابی عمل می کند. این مواد، انتقال پیام توسط پذیرنده‌های سلول T را مهار می‌کنند وبنابراین، تنها سلول‌های Tفعال‌شده را سرکوب کرده و به سلول‌های غیرفعال کاری ندارند. این درمان‌ها در بیشتر مواقع موجب سرکوب غیراختصاصی سیستم ایمنی می‌شوند و بنابراین، تفاوتی میان پاسخ‌های خود ایمن پاتولوژیک و پاسخ‌های ایمنی محافظت کننده قائل نمی‌شوند.

برداشتن تیموس یک روش درمانی دیگر بوده که در مورد برخی از موارد میاستنی‌گراویس، نتایج مثبتی داشته است. بدلیل این که افراد مبتلا به این بیماری اغلب دارای تیموس غیرطبیعی می‌باشند(مثل هایپرپلازی تیموس یا تیموما)، برداشتن تیموس در بالغین، اغلب احتمال بهبودی علائم را افزایش می‌دهد. ممکن است پلاسمافرز برای بیماران مبتلا به گریوز، میاستنی‌گراویس، آرتریت‌روماتوئید و لوپوس اریتماتوز سیستمیک مفید بوده و منافع کوتاه مدتی برای آنها داشته باشد. در این روند، پلاسما در اثر سانتریفوژکردن با جریان مداوم از خون بیماران خارج شده و سلول‌های خونی در یک محیط مناسب معلق شده و دوباره به بیمار برگردانده می‌شوند. پلاسما فرز برای مبتلایان به بیماری‌های خودایمن همراه با مجموعه‌های ایمنی نیز سودمند بوده که این مجموعه‌ها همراه با پلاسما از بدن فرد خارج می‌شوند. خارج ساختن مجموعه‌های ایمنی هر چند که موقتی می‌باشد ولی موجب کاهش کوتاه مدت علائم می‌گردد.

www.bbooks.ir

- درمان بیماری‌های خود ایمن انسانی با مشکلات خاصی همراه می‌باشد

مطالعات صورت گرفته بر روی مدل‌های حیوانی خودایمنی، شواهدی را ارائه می‌دهند که امکان متوقف ساختن خودایمنی وجوددارد. در چندین مدل حیوانی، آنتی‌بادی‌های منوکلونال موجب درمان موفقیت‌آمیز خود ایمنی شده‌اند. برای مثال، درصد بالایی از موش‌های نسل اول (NZB×NZW) که دوزهای بالای آنتی‌بادی منوکلونال ضد CD4 را به صورت هفتگی دریافت می‌کردند، علائم شبه لوپوس خودایمنشان از بین می‌رفت (شکل ۱۴-۱۶).



شکل ۱۴-۱۶: تزریق هفته ای آنتی بادی منوکلونال ضد CD4 به موش های نسل اول (NZB NZW) که علائم شبه لوپوس خودایمن را نشان داده و میزان بقای آنها افزایش می یابد.

در مورد موش‌های NOD نیز نتایج مثبتی بدست آمده است، که در این مورد، درمان با آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد CD4 منجر به ناپدید گشتن ارتشاح لنفوسیتی و علائم دیابتی می‌شود.

بدلیل این که آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد CD4، علیرغم ویژگی سلول‌های T_H، موجب مهار آنها یا تخلیه کامل آنها می‌گردند، پاسخ‌دهی ایمنی را به صورت کلی تحت تأثیر قرار دهند. به این دلیل و برخی دلایل دیگر، تعداد کمی از درمان‌های بکاررفته در مدل‌های حیوانی، در درمان بیماری‌های انسانی مؤثر بوده‌اند. یکی از محدودیت‌های مهم، تشخیص بیماری در مرحله‌ای است که به درمان حساس می‌باشد. در مدل‌های حیوانی خودایمنی که با تجویز یک آنتی‌ژن ایجاد می‌شوند یا آنهایی که نقایص ژنتیکی، به صورت قابل پیش‌بینی

www.bbooks.ir

به بیماری منجر می‌گردند، دریک مرحله تکاملی تعریف شده می‌توان وقایع اولیه در شکل‌گیری بیماری را ثبت کرد. با استفاده از روش‌های مهار کننده در این مراحل ابتدایی، می‌توان از شکل‌گیری بیماری جلوگیری کرد. در طرف مقابل، بیماری‌های خود ایمن انسانی قرار دارند که تشخیص آنها معمولاً با ظهور علائم آسیب‌های پیشرفته صورت می‌گیرد و شرایط تا حدی پیشرفت کرده که دیگر استفاده از روش‌های مهار کننده مؤثر نمی‌باشد.

برای مثال، دیابت در انسانها معمولاً تا زمان بروز مشکلاتی مثل سطوح بالای گلوکز خون یا علائم کمبود انسولین، تشخیص داده نمی‌شود. وقایع اولیه این بیماری فاقد علامت بوده و بدون جلب توجه عبور می‌کنند، بنابراین، فرصت مداخله نیز از بین می‌رود.

یکی دیگر از مشکلات این است که مدل‌های حیوانی پیش‌بینی کننده کامل پاسخ‌های انسانی نمی‌باشند. هر چند که آنتی‌بادی‌های ضد CD4 موجب درمان‌های موفقیت‌آمیز MS و آرتریت در مدل‌های حیوانی می‌گردند، ولی تاکنون کارآزمایی‌های بالینی این نوع درمان در مورد انسان مؤثر نبوده است. علاوه بر مشکلات فوق، امکان دارد دلیل این شکست، مداخله آنتی‌بادی‌های ضد CD4 با فعالیت سلول‌های T تنظیمی $CD4^+/CD25^+$ باشد که موجب جلوگیری فعالیت آنها در کنترل خود ایمنی می‌گردد.

- التهاب، هدفی برای درمان خودایمنی می‌باشد

التهاب مزمن که نشانه ناتوانی خودایمنی می‌باشد، روندهای پیش‌التهابی را به عنوان هدفی جهت مداخله در خودایمنی تبدیل کرده است. یادآوری می‌شود که التهاب از چندین مرحله شامل آزادسازی سایتوکاین و فراخوانی لکوسیت‌ها تشکیل شده است. فراخوانی لکوسیت‌ها به سمت جایگاه التهاب با خروج سلول‌ها از عروق همراه می‌باشد که در اثر چسبیدن لکوسیت‌ها به دیواره عروق بواسطه پروتئین‌های خانواده اینتگرین‌ها ممکن می‌شود (فصل ۳). اولین نوید در درمان MS، یک مهار کننده اینتگرین $\alpha4\beta1$ بود، ولی وقوع عفونت‌های غیرقابل درمان در برخی از افراد مورد آزمایش، موجب گردید تا از این دارو صرفنظر شود.

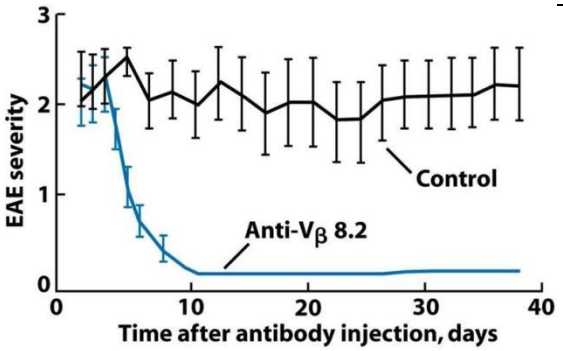
www.bbooks.ir

مهارکننده‌های TNF-α موارد قابل قبول تری بودند. داروهای Enbrel، Remicade و Humira محصولاتی هستند که TNF-α را هدف قرار داده و کاربرد وسیعی دردرمان آرتریت روماتوئید، پسوریازیس و بیماری کرون دارند. چندین استراتژی دیگر به منظور کاهش یا جلوگیری از التهاب در حال بررسی می‌باشند. یک آنتاگونیست IL-1R و آنتی‌بادی‌های ضد پذیرنده IL-6 و IL-15 به منظور درمان آرتریت روماتوئید، مجوزدریافت کرده‌اند.

دسته‌ای از داروها تحت عنوان استاتین‌ها که توسط میلیون‌ها نفر جهت کاهش کلسترول به کار می‌روند، موجب کاهش مقادیر سرمی پروتئین واکنشی C که یک پروتئین فازحاد و شاخص التهاب می‌باشد، می‌گردند. اولین مراحل آزمایش استاتین جهت درمان RA و MS، نتایج امیدوار کننده‌ای داشتند.

ماده مطرح شده دیگر جهت درمان خودایمنی، آنتی‌بادی منوکلونال Rituxan بوده که با هدف‌گیری شاخص سطحی CD20، سلول‌های B را از بین می‌برد. در حال حاضر Rituxan برای درمان لنفوم غیرهوجکین سلولB موردتأیید می‌باشد. بدلیل این که آنتی‌بادی‌ها در برخی از بیماری‌های خودایمن، مانند MS، RA و SLE نقش مهمی ایفا می‌کنند، تخلیه سلول‌های B می‌تواند سودمند باشد. کارآیی Rituxan در مورد این بیماری‌ها مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج اولیه، موفقیت آن را در کنترل آرتریت روماتوئید نشان می‌دهند (شکل ۱۵-۱۶).

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۱۶: تزریق آنتی بادی منوکلونال ضد پذیرنده سلول T Vβ8.2 به موش های PL/J که علائم EAE در آنها بهبود می یابد.

- سلول‌های T فعال‌شده می‌توانند اهداف درمانی خودایمنی باشند

مشکل اصلی درمان‌های سرکوب‌کننده ایمنی در مورد خودایمنی، این است که آنها با کاستن ایمنی کلی، میزبان را مستعد عفونت می‌کنند. یک راه برای جبران این اشکال، مهار کردن سلول‌های T_H فعال شده به تنهایی می‌باشد، زیرا این سلول‌ها میانجی‌های مهم خود ایمنی هستند. محققان آزمایشات خود را با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد زیرواحد α پذیرنده IL-2 با میل ترکیبی بالا که تنها بر روی سلول‌های T_H فعال شده توسط آنتی‌ژن بیان می‌شود، به انجام رساندند. بدلیل بیان بالای زیر واحد α پذیرنده IL-2 با میل ترکیبی بالا (CD25) در سلول‌های Tخودواکنشگر، امکان مهار این سلول‌ها توسط آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد CD25وجود خواهد داشت. این روش در مورد رت‌های بالغ که به آنها سلول‌های Tفعال‌شده اختصاصی MBP همراه یا در غیاب آنتی‌بادی ضد CD25 تزریق گردید نیز انجام شد. تمام رت‌های گروه کنترل در اثر EAE مردند، در حالی که ۶ مورد از ۹ موردی که آنتی‌بادی ضد CD25 دریافت کرده بودند، هیچ علائمی نداشتند و علائم در ۳ رت دیگر خفیف بودند. دلیل احتمالی استفاده نکردن از این روش درمانی، تأثیر منفی آن بر روی سلول‌های Treg می‌باشد که مقادیر بالایی از Il-2Rα را بیان می‌کنند.

www.bbooks.ir

ارتباط بیماری‌های خود ایمن با TCRهای خاص در مدل‌های حیوانی محققـان را ترغیـب کرده تا دریابند که آیا مسدودکردن TCR خاصی توسط آنتی‌بادی منوکلونال، تأثیر درمانی دارد یا خیر. تزریق آنتی‌بادی منوکلونال ضد $V_{\beta}8.2$ پذیرنده سلول T، به موش‌هـای PL/J ، از القای EAE در اثر تجویز MBP و ادجوانت جلوگیری کرد. یافته امیدبخش دیگر این بود که آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد $V_{\beta}8.2$ قادرند علائم خود ایمنی را در موش‌هـایی کـه بـه EAE دچار بودند، بهبود بخشند (شکل ۱۵-۱۶).

به همین صورت، ارتباط بین آلل‌های مختلف MHC و خود ایمنی، همانند افزایش بیان یا بیان نامناسب MHCدر برخی بیماری‌های خود ایمن، ایـن احتمـال را فـراهم مـی‌کنـد کـه استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد مولکول‌های خاص MHC، شکل‌گیری خود ایمنی را به تعویق اندازد. علاوه بر آن، از آنجایی کـه سـلول‌هـای عرضـه کننـده آنتـی‌ژن، معمـولاً مولکول‌های MHC کلاس II متفاوتی را عرضه می‌کنند، از نظر تئوری این امکان وجود دارد که بتوان مولکول MHCمرتبط با خود ایمنـی را بـه صـورت انتخـابی، مهـار کـرد. در یـک مطالعه، تزریق آنتی‌بادی‌هـای منوکلونـال ضـد MHCکـلاس II قبـل از تزریـق MBP بـه موش‌ها شکل‌گیری EAE را متوقف کرد. در عوض، اگر آنتی‌بادی‌ها پس از تزریـق MBP، تجویز گردند، ایجاد EAE به تعویق افتاده، اما متوقف نمی‌شود. در پریمات‌های غیر انسـان، آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد HLA-DR و HLA-DQ موجب بهبودی EAE می‌شوند.

- آنتی‌ژن‌های خوراکی می‌توانند تحمل ایجاد کنند

هنگامی که آنتی‌ژن‌ها به صورت خوراکی تجویز شوند، تمایل به ایجاد حالـت بـی‌پاسـخی ایمونولوژیک یا تحمل دارند. برای مثال، همان‌طور که قبلاً عنوان شد، موش‌هایی کـه MBP را به صورت خوراکی دریافت کرده باشـند، در اثـر تزریـق بعـدی MBP بـه EAE دچـار نمـی‌شـوند. ایـن یافتـه بـه آزمایشـی منجـر شـد کـه در آن بـه ۳۰ فـرد مبـتلا بـه مولتیپل‌اسکلروزیس روزانه به مدت یک سال ۳۰۰ میلی‌گرم میلین‌گاو و یا دارونما داده شد.

www.bbooks.ir

نتایج این بررسی مشخص کرد که در گروه تغذیه شده با میلـین، سـلول‌هـای T اختصاصـی MBP کاهش یافته بود؛ علائم MS در مردان گیرنده کاهش یافتـه بـود (هرچنـد کـه ایـن کاهش از نظر آماری ضعیف بود) ولی در زنان کاهشی مشاهده نمی‌شد. نتایج القـای تحمـل دهانی در موش‌ها امیدوار کننده‌تر از انسان‌ها بود. در هر حال، کارآزمایی‌های بالینی انسـانی در مراحل ابتدایی هستند و ممکن است پپتیدها و دوزهای به کـار رفتـه، حـداکثر تـأثیر را نداشته باشند، از آنجایی که آزمایشات حیوانی انجام گرفته نتایج امیدوار کننده‌ای داشته‌اند، احتمالاً آزمایشات بالینی بیشتری طی چند سال آینده صورت خواهد گرفت.

- خلاصه

- یکی از وظایف اصلی سیستم ایمنی، تشخیص خودی از غیر خودی بوده و شکست در انجام آن منجر به حمله ایمنی به سلول ها و اعضای میزبان و امکان شروع بیماری خود و ایمن خواهد گردید.
- مکانیسم‌های جلوگیری از واکنش علیه خود، که تحمل نامیده می‌شود، در سطوح متعددی صورت می‌گیرند. تحمل محیطی لنفوسیت‌های خودواکنشگری را که از مرحله قبل باقی مانده‌اند، غیر فعال می‌کند.
- بیماری‌های خودایمن انسانی را می‌توان به صورت بیماری‌های مختص عضو و سیستمیک تقسیم‌بندی کرد. بیماری‌های مختص عضو شامل پاسخ خودایمنی علیه یک عضو یا غده می‌باشند. بیماری‌های سیستمیک علیه طیف وسیعی از بافت‌ها ایجاد می‌شوند.
- مدل‌های حیوانی بیماری‌های خود ایمن به هر دو شکل خودبه‌خودی و تجربی وجود دارند. بیماری‌های خودایمن خودبه‌خودی در اثر نقایص ژنتیکی ایجاد می‌شوند، در حالی که مدل‌های حیوانی تجربی در اثر ایمونیزاسیون با آنتی‌ژن‌های خودی همراه با ادجوانت، تولید می‌شوند.

www.bbooks.ir

- مطالعات بر روی مدل‌های حیوانی خود ایمنی تجربی، یک نقش مرکزی را برای سلول‌های $CD4^+T_H$ درشکل‌گیری خودایمنی تعیین کرده‌اند. کلون‌های سلول T جداسازی شده را می‌توان به منظور القای خودایمنی در حیوانات سالم به کاربرد. هاپلوتایپ MHC در حیوانات مورد آزمایش، توانایی عرضه اتوآنتی‌ژن‌های خودی را به سلول‌های T_H تعیین می کند.
- تعداد نسبی سلول‌های T_H1و T_H2 ظاهراً نقش مهمی در شکل‌گیری خودایمنی بازی می‌کند؛ سلول‌های T_H1موجب پیشبرد خودایمنی می‌گردند، در حالی که سلول‌های T_H2 از شکل‌گیری و پیشرفت خودایمنی جلوگیری می‌کنند.
- مکانیسم‌های متنوعی برای القای خودایمنی پیشنهاد شده‌اند که شامل: آزاد شدن آنتی‌ژن‌های مخفی، تقلید مولکولی و بیان نامناسب MHC کلاس II بر سطح سلول‌ها می‌باشند. برای هر کدام از مکانیسم‌های فوق شواهدی موجود بوده که نشان دهنده وجود مسیرهای مختلفی است که به خودایمنی می‌انجامند.
- درمان‌های کنونی بیماری‌های خودایمن شامل درمان با داروهای سرکوبگر ایمنی، برداشتن تیموس و پلاسمافرز برای بیماری‌هایی که مجموعه‌های ایمنی در آنها دخالت دارند، می‌باشد. مهارکننده‌های TNFα در کنترل آرتیریت روماتوئید، بیماری کرون و پسوریازیس موفق بوده‌اند.

- سئوالات درسی

۱-توضیح دهید که چرا تمامی لنفوسیت‌های خودواکنشگر، در تیموس یا مغز استخوان حذف نمی‌شوند؟ چگونه واکنش‌دهنده‌های زنده مانده از آسیب‌زدن به خودی منع می‌شوند؟

۲-چرا تحمل برای عملکرد طبیعی سیستم ایمنی ضروری می‌باشد؟

۳-اهمیت پدیده ویرایش پذیرنده در تحمل سلول‌های B در چیست؟

www.bbooks.ir

۴-برای هر کدام از بیماری‌های خودایمن زیر (الف تا ر) مناسبت‌ترین خصوصیت را (۱ تا ۱۲) انتخاب کنید.

الف) آنسفالیت خود ایمن تجربی (EAE)

ب) سندرم گودپاسچر

پ)بیماری گریوز

ت)لوپوس ارتیماتوز سیستمیک (SLE)

ث)دیابت ملتیوس وابسته به انسولین (IDDM)

ج)آرتریت روماتوئید (RA)

چ)تیروئیدیت‌هاشیموتو

ح)میاستنی گروایس خود ایمن تجربی (EAMG)

خ)میاستنی گراویس

د)آنمی‌پرنیسیوز

ذ) مولتیپل اسکلروزیس (MS)

ر)آنمی‌همولیتیک خود ایمن

خصوصیات

(۱) اتوآنتی‌بادی ضد فاکتور داخلی جذب ویتامین B12 را مهار می‌کند.

(۲) اتوآنتی‌بادی علیه پذیرنده استیل‌کولین

(۳) واکنش سلول T_H1 به آنتی‌ژن‌های تیروئیدی

(۴) اتوآنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های گلبول قرمز

(۵) پاسخ سلول T به میلین

(۶) در اثر تزریق MBP همراه با ادجوانت کامل فروند القا می‌گردد.

(۷) اتوآنتی‌بادی علیه IgG

www.bbooks.ir

(۸) اتوآنتی‌بادی علیه غشای پایه

(۹) اتوآنتی‌بادی علیه DNA و پروتئین‌های مرتبط با DNA

(۱۰) اتوآنتی‌بادی علیه پذیرنده هورمون محرک تیروئید

(۱۱) در اثر تزریق پذیرنده‌های استیل‌کولین القا می‌شود.

(۱۲) پاسخ سلول‌های T_H1 به سلول‌های بتای پانکراس

۵- آنسفالیت خودایمن تجربی (EAE) به عنوان یک مدل حیوانی مناسب برای بیماری‌های خودایمن شناخته می‌شود.

الف)توضیح دهید که چگونه این مدل حیوانی تولید می‌شود.

ب)در حیواناتی که از EAE بهبود می‌یابند، چه موضوعی غیرمعمول می‌باشد؟

پ)این مدل حیوانی چگونه نقش سلول‌های T را در شکل‌گیری خودایمنی نشان می‌دهند؟

۶- تقلید مولکولی یکی از مکانیسم‌های پیش‌نهادی برای ایجاد خودایمنی می‌باشد. چگونه القای EAE توسط MBP به درک تقلید مولکولی در خودایمنی کمک می‌کند؟

۷- حدقل سه مکانیسم را که عفونت ویروسی موضعی به شکل‌گیری بیماری خودایمن مختص عضو منجر می‌شود، شرح دهید.

۸- موش‌های ترانس ژنیکی که ژن انتقالی IFN-γ متصل شده به پروموتر انسولین را بیان می‌کنند،به دیابت دچار می‌شوند.

الف) چرا از پروموتر انسولین استفاده شده است؟

ب)شواهدی که دلالت بر این موضوع کنند که دیابت به دلیل آسیب‌های ایمنی ایجاد شده است،کدامند؟

پ) نکته قابل توجه در مورد بیان MHC در این سیستم کدام است؟

www.bbooks.ir

ت) این سیستم چگونه از وقایع صورت گرفته در اثر عفونت ویروسی موضعی در پانکراس، تقلید می‌کند؟

۹-آنتی‌بادی‌های منوکلونال متنوعی به منظور درمان خودایمنی در مدل حیوانی به کاررفته‌اند. چه آنتی‌بادی‌های منوکلونالی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و منطق کاربرد آنها کدامند؟

۱۰- صحیح یا غلط بودن هر یک از عبارات زیر را مشخص کنید. در صورتی که فکر می‌کنید جمله‌ای غلط می‌باشد دلیل خود را شرح دهید.

الف)سلول‌های TH1 در ایجاد خودایمنی دخالت دارند.

ب)ایمونیزاسیون موش‌ها با IL-12 بواسطه تزریق MBP با ادجوانت، جلوگیری می‌کند.

پ)حضورآلل HLA-B27 برای بیماری اسپوندیلیت آنکیلوزان که ستون مهره‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، تشخیصی می‌باشد.

ت)افراد مبتلا به آنمی‌پرنیسیوز، آنتی‌بادی‌هایی علیه فاکتور داخلی تولید می‌کنند.

ث)نقص در ژن کدکننده Fas، می‌تواند از مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در اثر آپوپتوز بکاهد.

۱۱- برای هر کدام از ناهنجاری‌های خودایمن زیر (الف تا ت)، درمان مناسب(۱ تا ۵) را مشخص کنید.

الف) تیروئیدیت هاشیموتو

ب) لوپوس اریتماتوز سیستمیک

پ) بیماری گریوز

ت) میاستنی گراویس

۱- سایکلوسپورین A

۲- برداشته تیموس

۳- پلاسمافرز

۴- پیوند کلیه

۵- هورمون‌های تیروئیدی

www.bbooks.ir

۱۲- همان‌طور که در فصل ۷ شرح داده شد، کمبود اجزای کمپلمان مثل C1q، C1r ، Cls، C4 یا C2 می‌تواند به SLE بیانجامد، در حالی که، در بیماران مبتلا به SLE فعالیت بیش از حد کمپلمان به چشم می‌خورد. توضیح دهید که چگونه هر دو یافته فوق صحیح می‌باشند.

۱۳- کدام یک از موارد زیر، نمونه‌هایی از مکانیسم‌های تشکیل خودایمنی می‌باشند؟ برای هر مورد مثالی بیاورید.

الف)فعال شدن پلی‌کلونال سلول B

ب) آسیب‌بافتی

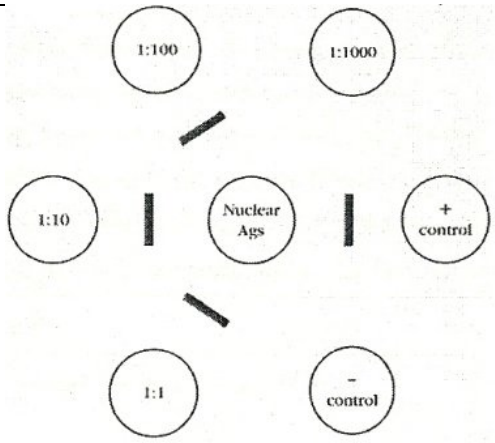
پ) عفونت ویروسی

ت) افزایش بیان مولکول‌های TCR

ث) افزایش بیان مولکول‌های MHC کلاس II

۱۴- شکل زیر یک آزمون انتشار ایمنی دو طرفه (روش اخترلونی) را پس از چندین روز انکوباسیون نشان می‌دهد که در آن یک بیمار برای بیماری خودایمن مورد آزمایش قرار گرفته است. چاهک مرکزی با محلولی حاوی مخلوطی از آنتی‌ژن‌های هسته‌ای پرشده است (نوکلئوزوم‌ها و اسپلایسوزوم‌ها). سرم بیمار با رقت‌های مختلفی رقیق شده و به چاهک‌های اطراف اضافه شده است(نسبت‌های رقیق‌سازی روی چاهک‌ها مشخص شده‌اند). یک کنترل مثبت (آنتی‌بادی موشی ضد هیستون انسانی) در یک چاهک و یک کنترل بدون ارتباط (سرم انسانی طبیعی) در چاهک دیگر ریخته شده است.

www.bbooks.ir



الف)برمبنای آزمایش، کدامیک از عبارات زیر در مورد بیمار صحیح می‌باشد؟

۱- بیمار سالم می‌باشد، زیرا بیان آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های هسته‌ای امری طبیعی می‌باشد.

۲- بیمار احتمالاً مرد بوده و از سندرم گودپاسچر رنج می‌برد.

۳- بیمار احتمالاً از آلرژی حاد رنج می‌برد.

۴- بیمار احتمالاً به SLE دچار است و به احتمال زیاد زن می‌باشد.

ب)تیتر این بیمار چقدر می‌باشد؟

پ)شما به منظور تأیید یافته‌هایی که در شکل بالا مشخص شده‌اند، کدامیک از آزمایشات زیر را نجام می‌هید؟

۱- الایزای مستقیم که پلیت‌ها با آنتی‌ژن‌های هسته‌ای پوشانده شده باشند.

۲- آزمون ایمونوفلورسانس بر روی برش‌های بافتی یا سلول‌های انسانی نفوذ پذیر شده

۳- آزمون وسترن بلات که در آن پروتئین‌های هسته‌ای در ژل قرار داده شوند و از سرم به عنوان آنتی‌بادی اولیه استفاده شود.

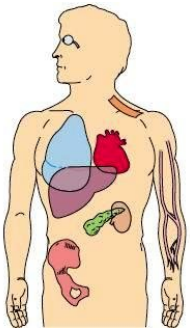
www.bbooks.ir

فصل هفدهم

ایمونولوژی پیوند

- پایه ایمونولوژیک رد پیوند
- علائم بالینی رد پیوند
- درمان سرکوب ایمنی عمومی
- درمان سرکوب ایمنی اختصاصی
- تحمل ایمنی به پیوند آلوگرافت
- پیوند بالینی

www.bbooks.ir



واژه پیوند که در ایمونولوژی به کار می‌رود به عمل انتقال سلول‌ها، بافت‌ها یا اعضا از یک مکان به مکان دیگر اشاره دارد. بسیاری از بیماری‌ها می‌توانند توسط انتقال یک عضو، بافت یا سلول‌های سالم (یک پیوند) از یک فرد (دهنده) به کسی که نیازمند آن می‌باشد (گیرنده یا میزبان) درمان شوند. پیشرفت‌های تکنیکی در زمینه جراحی، موجب برطرف شدن یکی از سدهای موجود در انجام یک پیوند موفق گردیده‌اند، ولی هنوز برخی موانع باقی مانده‌اند که یکی از آنها کمبود عضو جهت انجام پیوند می‌باشد. با وجودی که یکی از منابع پیوند، اعضای قربانیان تصادفات و یا در برخی موارد، دهندگان زنده می‌باشد، ولی تعداد بیمارانی که نیاز به پیوند دارند، بیشتر از اعضای موجود می‌باشد. اهمیت کمبود دهنده عضو در این واقعیت انعکاس می‌یابد که در آوریل سال ۲۰۰۶ حدود ۹۱۷۰۰ بیمار در ایالات متحده در لیست پیوند عضو قرار داشتند. اکثر این افراد (حدود ۷۰ درصد) نیازمند یک کلیه بودند، در حال حاضر میانگین طول دوره انتظار برای این عضو ۸۰۰ روز می‌باشد. اگر چه کمبود عضو پیوندی یک مسئله جدی است، اما مانع قوی دیگر جهت کاربرد پیوند به عنوان یک روش درمانی معمول، سیستم ایمنی می‌باشد. سیستم ایمنی به منظور محافظت شخص در برابر عوامل بیگانه دارای مکانیسم‌های کارآمدی می‌باشد و همین مکانیسم‌ها موجب رد پیوند از شخصی می‌گردد که از لحاظ ژنتیکی با گیرنده پیوند همسان نمی‌باشد.

www.bbooks.ir

گزارش آلکس کارل[1] اولین مطالعه سیستماتیک پیوند در سال ۱۹۰۸ بود؛ او کلیه‌های یک سری ۹ تایی گربه را با هم تعویض کرد. در اغلب گیرندگان کلیه، جریان ادرار تا ۲۵ روز وجود داشت. اگر چه تمام گربه‌ها در نهایت مردند، ولی گزارش منتشر شده بیان می‌کرد که یک عضو پیوندی قادر است عملکرد طبیعی خود را در فرد گیرنده به انجام برساند. اولین عمل پیوند کلیه در انسان که توسط یک جراح روس صورت پذیرفت با شکست مواجه شد، زیرا گروه خونی‌دهنده و گیرنده با یکدیگر اختلاف داشت. این نوع ناسازگاری اغلب باعث رد فوری کلیه شده و بدون برقراری عملکردهای کلیوی، بیمار فوت می‌کند. چنین پاسخ ایمنی سریعی که با عنوان رد فوق حاد شناخته شده و توسط آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده میانجی‌گری می‌شوند، در این فصل شرح داده خواهند شد. در سال ۱۹۵۴ یک تیم پزشکی با سرپرستی جوزف موری[2] در بیمارستان پیتربینت بریگهام در بوستون، اولین پیوند موفقیت‌آمیز کلیه انسان بین دوقلوهای همسان را انجام دادند. امروزه پیوندهای پانکراس، قلب، ریه، کبد، مغز استخوان و قرنیه بین افراد غیرهمسان با فراوانی و موفقیت زیاد، حداقل برای دوره کوتاهی از زندگی بیماران انجام می‌شود.

طیفی از داروهای سرکوب کننده ایمنی که قادرند عمل رد پیوند شده را به تأخیز انداخته یا از آن ممانعت به عمل آورند، شامل داروها و آنتی‌بادی‌های اختصاصی بوده که موجب کاهش حمله سیستم ایمنی می‌گردند، ولی اکثر این مواد که دارای خاصیت کلی سرکوب‌کنندگی ایمنی هستند، درعضو درازمدت اثرات مضر بسیاری برروی گیرنده عضو دارند.

روش‌های جدید القای تحمل اختصاصی در برابر پیوند، بدون سرکوب سایر پاسخ‌های ایمنی ایجاد شده‌اند که امیدبخش بقای طولانی‌تر پیوند، بدون تضعیف سیستم ایمنی می‌باشند. در این فصل مکانیسم‌های رد پیوند، روش‌های متنوعی که اخیراً به منظور

1- Alexis Carrel
2-Joseph Murray

www.bbooks.ir

طولانی‌تر کردن بقای پیوند و برخی از تکنیک‌های تجربی که ممکن است در آینده مورد استفاده قرار گیرند و خلاصه‌ای از وضعیت اخیر پیوند به عنوان یک ابزار بالینی شرح داده می‌شوند. در قسمت تمرکز بالینی به استفاده از اعضای گونه‌های غیر انسانی (Xenotransplants) به منظور جبران کمبود اعضای موجود برای بیماران نیازمند پیوند، پرداخته می‌شود.

- اساس ایمونولوژیک رد پیوند

میزان پاسخ ایمنی به یک پیوند، با توجه به نوع پیوند متغیر می‌باشد. اصطلاحات زیر برای مشخص کردن انواع مختلف پیوند به کار می‌روند.

- **اتوگرافت**[1]: بافت خودی که از محلی در بدن یک شخص به محل دیگری در بدن خود او منتقل می‌شود. انتقال پوست سالم به ناحیه سوخته در بیمارانی که دچار سوختگی شده‌اند یا استفاده از عروق خونی سالم جهت جایگزینی عروق کرونر مسدود شده، نمونه‌هایی از اتوگرافت هستند که مرتباً انجام می‌شوند.
- **ایزوگرافت**[2]: به انتقال بافت میان افراد با ژنتیک یکسان گفته می‌شود. در موش‌های inbred می‌توان پیوند ایزوگرافت را بین موش‌های سینژنیک انجام داد. انجام ایزوگرافت در انسان‌ها بین دوقلوهای همسان یا یک تخمکی صورت می گیرد.
- **آلوگرافت**[3]: به انتقال بافت بین اعضای یک‌گونه که از نظر ژنتیک با هم تفاوت دارند، گفته می‌شود. در موش، پیوند آلوگرافت بوسیله انتقال یک بافت یا عضو از یک نژاد به نژاد دیگر انجام می‌شود. در انسان، پیوند عضو از یک فرد به فرد دیگر – درصورتی که دهنده و گیرنده پیوند دوقلوهای همسان نباشند – آلوگرافت می‌باشد.

1- autograft
2- isograft
3- allograft

www.bbooks.ir

- **زنوگرافت**[1]: انتقال بافت میان گونه‌های متفاوت (پیوند قلب از یک میمون به انسان) زنوگرافت خوانده می‌شود. بدلیل کمبود قابل توجه اعضای اهدایی، پرورش حیوانات به منظور رفع نیاز اعضای اهدایی برای انسانها از اهمیت قابل توجهی برخوردارد می‌باشد.

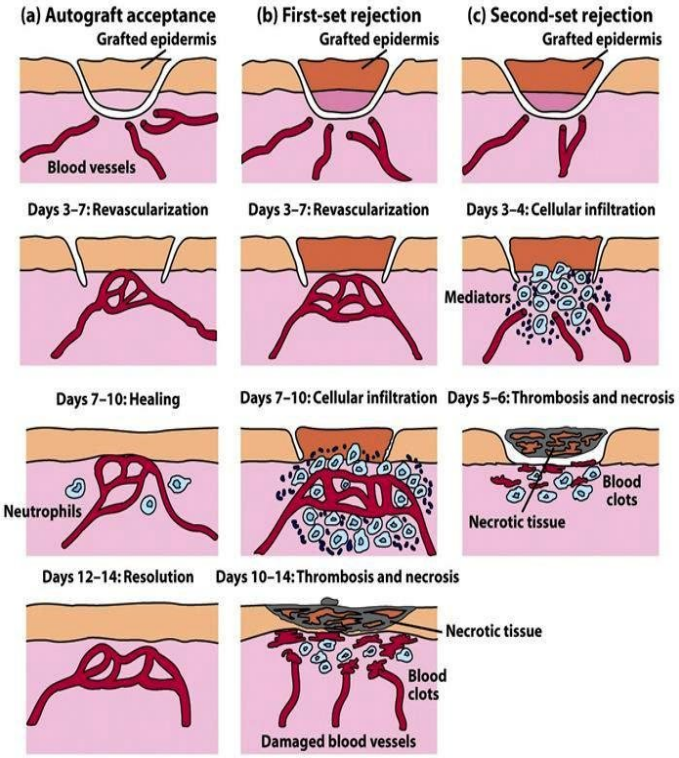
پیوندهای اتوگرافت و ایزوگرافت. به دلیل ژنتیک یکسان دهنده و گیرنده پیوند، معمولاً پذیرفته می‌شوند (شکل ۱a-۱۷). به علت عدم همسانی ژنتیکی آلوگرافت و میزبان، معمولاً توسط سیستم ایمنی به عنوان بیگانه قلمداد شده و رد می‌شود. مسلماً زنوگرافت دارای بیشترین عدم همسانی ژنتیکی بوده و رد پیوند شدیدتری را در پی خواهد داشت.

- ردپیوند آلوگرافت دارای ویژگی و خاطره می‌باشد

میزان رد آلوگرافت بسته به بافت مورد نظر، متفاوت می‌باشد. به صورت کلی، ردپیوندهای پوست سریع‌تر از بقیه بافت‌ها مثل قلب یا کلیه صورت می‌گیرد. علیرغم این تفاوت زمانی، پاسخ ایمنی که منجر به رد پیوند می‌شود، همیشه با ویژگی و خاطره همراه می‌باشد. اگر یک موش درونزاد از نژاد A، پیوند پوست از نژاد B دریافت کند، رد ابتدایی پیوند رخ داده که به نام رد پیوند مرحله اول شناخته می‌شود (شکل ۱b-۱۷).

1- xenograft

www.bbooks.ir



شکل مروری ۱-۱۷: دیاگرام های شماتیکی از فرآیند پذیرش و پس زدن پیوند.

پوست در ابتدا، بین روزهای ۳ تا ۷ پس از پیوند شروع به رگ‌دار شدن مجدد می‌کند. با شروع واکنش، لنفوسیت‌ها، منوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و بقیه سلول‌های التهابی به داخل بافت پیوند شده ارتشاح می‌یابند. از روز ۷ تا ۱۰ رگ‌سازی کاهش یافته و از روز دهم نکروز قابل مشاهده‌ای در بافت ایجاد می‌گردد. رد کامل پیوند بین روز ۱۲ تا ۱۴ پس از پیوند رخ می‌دهد.

خاطره ایمونولوژیک در پیوند از نژاد B، برای دومین بار به نژاد A نشان داده می‌شود. در این مورد، عمل رد پیوند اغلب پیشرفت بسیار سریعی داشته و کامل شدن رد پیوند بین ۵

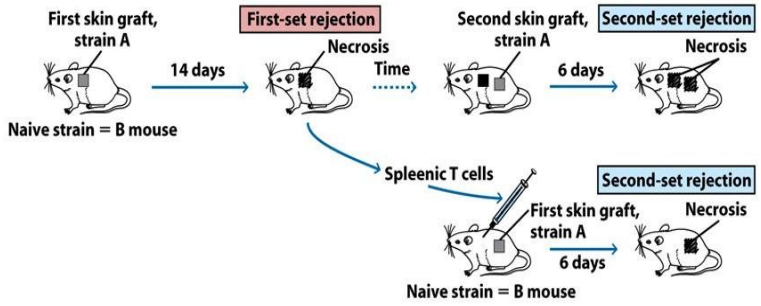
www.bbooks.ir

تا ۶ روز اتفاق می‌افتد. این پاسخ ثانویه با عنوان رد پیوند مرحله دوم شناخته می‌شود (شکل ۱c-۱۷). ویژگی این نوع رد پیوند را می‌توان بوسیله انجام یک پیوند از نژاد C غیر وابسته به صورت همزمان و به عنوان دومین پیوند از نژاد B به تصویر کشید. پیشرفت پس زدن پیوند C همانند رد پیوند مرحله اول بوده ولی دومین پیوند از نژاد B به صورت رد پیوند مرحله دوم می‌باشد.

- در رد آلوگرافت، سلول‌های T نقش کلیدی بازی می‌کنند

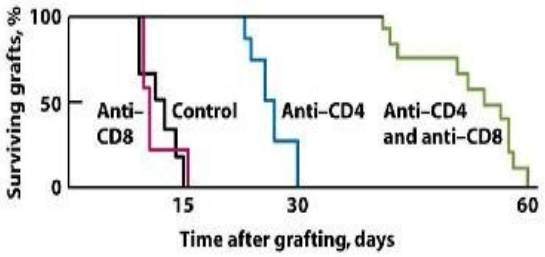
در اوایل دهه ۱۹۵۰ در آزمایشات انتقال سازگار (کشتن لنفوسیت‌های میزبان توسط اشعه X و تزریق سلول‌های ایمنی فرد دهنده پیوند) نشان داده شد که لنفوسیت‌ها و نه آنتی‌بادی‌های موجود در سرم، قادر به انتقال ایمنی مربوط به پیوند آلوگرافت می‌باشند. مطالعات بعدی نقش سلول‌های T را در رد پیوند مشخص کردند. برای مثال، مشاهده شد که موش‌های nude که فاقد تیموس و بالطبع فاقد سلول‌های T کارآمد هستند، قادر به رد پیوند آلوگرافت نمی‌باشند. در واقع این موش‌ها حتی پیوند زنوگرافت را نیز قبول می‌کنند. نشان داده شده که سلول‌های T مشتق شده از موش‌هایی که با پیوند آلوگرافت آماده‌سازی شده‌اند، قادرند رد پیوند مرحله دوم را در موش‌های هم‌نژادی که همان پیوند را دریافت کرده‌اند، القا کنند (شکل ۲-۱۷).

www.bbooks.ir



شکل ۲-۱۷: اثبات آزمایشگاهی این که سلول های T می توانند پس زدن آلوگرافت را انتقال دهند. زمانی که سلول های T مشتق شده از یک موش پیوند شده به یک موش هم ژن انتقال می یابند، موش های پذیرنده آلوگرافت اولیه را پس می زنند.

در آنالیز زیر جمعیت‌های سلول T دخیل در رد پیوند آلوگرافت، جمعیت‌های سلولی $CD4^+$ و $CD8^+$ به چشم می‌خورند. در یک مطالعه، به موش‌ها آنتی‌بادی منوکلونال تزریق شد تا از یک یا دو جمعیت سلولی تخلیه گردند و سپس میزان رد پیوند در آنها اندازه‌گیری شد.



شکل ۳-۱۷: نقش سلول های $CD4^+$ T و $CD8^+$ در پس زدن آلوگرافت با منحنی های زمان بقای پیوند پوست بین موش های با MHC ناسازگار اثبات می شود.

همان‌طور که شکل ۳-۱۷ نشان می‌دهد، حذف جمعیت $CD8^+$، به تنهایی اثری بر روی زمان بقای پیوند نداشته و عمل رد پیوند، همزمان با موش‌های کنترل (۱۵ روز) صورت می‌گیرد و حذف جمعیت سلول $CD4^+$ به تنهایی، موجب طولانی‌تر شدن بقای پیوند خواهد

www.bbooks.ir

شد. این در حالی است که حذف همزمان جمعیت‌های $TCD4^+$ و $TCD8^+$ منجر بـه بقـای بیشتر پیوندهای آلوگرافت تا ۶۰ روز می‌گردد. این مطالعه نشان می‌دهد کـه جمعیـت‌هـای سلولی $TCD4^+$ و $TCD8^+$ به صورت مشترک در رد پیوند دخالت داشته و همکاری آنها با یکدیگر موجب رد قدرتمندتر پیوند می‌گردد. این اطلاعات، توسط مطالعـات اخیـر بـر روی بیان ژن CD4 و CD8 در سلول‌های T انسانی که در آلوگرافت‌های کلیه ارتشاح یافتـه‌انـد، تأیید گردیده‌اند. مطالعه‌ای که بر روی بیان RNA صورت گرفته نشان مـی‌دهـد کـه بیـان CD4 و CD8 درسلول‌های Tحاضر در هر دو رد پیوند حاد و مزمن، بیش از حد مـی‌باشـد. سطوح افزایش یافته IFN-γ در سلول‌های T ارتشاح یافته، این سلول‌ها را در زیر رده TH1 قرار می‌دهد.

نقش سلول‌های دندریتیک در رد یا تحمل آلوگرافت، به علت ظرفیـت آنهـا در تحریـک ایمنی و نقش آنها در القای تحمل مورد علاقه زیادی قرار دارد. همان‌طـور کـه در فصـل ۸ بحث شد، سلول‌های دندرتیک قادرند توسط عرضه متقاطع، آنتی‌ژن‌های خارجی را همراه با MHC کلاس I عرضه کنند و این امکان را به سلول‌های $TCD8^+$ بدهند تا به عنوان بخشی از روند رد پیوند، آلو آنتی‌ژن‌ها را شناسایی کنند. مطالعه بر روی موش‌ها نشـان داده اسـت که مهار سلول‌های دندریتک، احتمالاً به دلیل تداخل عمل عرضه آنتی‌ژن، می‌تواند در قبول پیوند، کمک‌کننده باشد. از طرف دیگر، مواجهه قبلی با سلول‌های دندرتیک‌دهنده مـی‌توانـد موجب القای تحمل و طولانی‌تر کردن پذیرش هر دو پیوند قلـب و پـانکراس در مطالعـات موشی گردد.

- حالات مشابه آنتی‌ژنیک منجر به قبول آلوگرافت می‌شوند

بافت‌هایی که از نظر آنتی‌ژنی مشابه می‌باشند، اصطلاحاً **سازگار از نظـر بـافتی**[1] خوانـده می‌شوند. چنین بافت‌هایی پاسخ ایمنی که موجب رد پیوند می‌شود را القا نمی‌کنند. بافت‌هایی

1- histocompatible

www.bbooks.ir

که دارای تفاوت‌های آنتی‌ژنیک هستند، ناسازگار از نظر بافتی خوانده می‌شوند و پاسخ ایمنی که منجر به رد پیوند می‌شود القا می‌کنند. آنتی‌ژن‌های متنوعی که سازگاری بافتی را تعیین می‌کنند، توسط بیش از ۴۰ لوکوس کد می‌شوند ولی لوکوسی که مسئول شدیدترین واکنش‌های پس‌زدن پیوند می‌باشد در **مجموعه سازگاری بافتی اصلی**[1] **(MHC)** واقع شده است. سازماندهی MHC – در انسان HLA و در موش مجموعه H-2 خوانده می‌شود- در فصل ۸ توضیح داده شد (شکل ۱-۸). بدلیل این که لوکوس MHC بسیار نزدیک هم می‌باشند، اغلب به صورت کامل از هر والد به ارث می‌رسد که **هاپلوتایپ**[2] نامیده‌می‌شود.

در موش‌های درونزاد، تمامی آنها در هر لوکوس MHC هموزیگوت می‌باشند. برای مثال وقتی دو نژاد درونزاد مختلف با هاپلوتایپ‌های b و k با یکدیگر آمیزش کنند، در نسل F1 هر کدام از فرزندان یک هاپلوتایپ را از مادر و یک هاپلوتایپ را از پدر به ارث می‌برند (شکل ۲-۸). این فرزندان MHC نوع b/k را داشته و می‌توانند پیوند را هم از پدر و هم از مادر قبول کنند. هیچ‌کدام از موش‌های نژاد والدین، نمی‌توانند از موش‌های F_1 پیوند را قبول کنند. توارث MHC در جمعیت‌های برونزاد پیچیده‌تر می‌باشد. زیرا میزان بالای پلی‌مورفیسم که در هر لوکوس MHC وجود دارد، می‌تواند منجر به هتروزیگوت شدن در بیشتر لوکوس‌ها گردد. در آمیزش میان اعضای یک نژاد برونزاد احتمال این‌که از هر دو نوزاد یکی هاپلوتایپ‌های MHC یکسانی را به ارث ببرد تنها ۲۵٪ میباشد. مگر این که والدین در یک یا تعداد بیشتری از هاپلوتایپ‌ها همانند باشند. به همین دلیل، برای پیوند عضو یا مغز استخوان احتمال ۲۵٪ دو فرزند دارای MHC یکسان می‌باشند. در مورد پیوندهای والدین به فرزندان، دهنده و گیرنده همواره دارای یک هاپلوتایپ مشترک می‌باشند و تقریبای همیشه هاپلوتایپ غیرسازگار از والد دیگر به ارث رسیده است.

1- major histocompatibility complex
2- haplotype

www.bbooks.ir

- دهندگان و گیرندگان پیوند از نظر آنتی‌ژن‌های RBC و MHC بررسی می‌شوند

از آنجایی که تفاوت در گروه خونی و آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی، مسئول اغلب واکنش‌های پس‌زدن پیوند می‌باشد، روش‌های تعیین بافت متعددی شکل گرفته‌اند تا این آنتی‌ژن‌ها را شناسایی کنند. در ابتدا، دهنده و گیرنده از نظر سازگاری گروه‌های خونی ABO بررسی می‌شوند. آنتی‌ژن‌های گروه خونی آنها برروی RBCها، سلول‌های اپی‌تلیال و سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شوند. آنتی‌بادی‌هایی که در بدن گیرنده ساخته شده‌اند و علیه هر کدام از این آنتی‌ژن‌ها که در داخل بافت پیوند شده حضور دارند، می‌باشندمنجر به لیز توسط کمپلمان و با واسطه آنتی‌بادی سلول‌های ناسازگار دهنده می‌گردد.

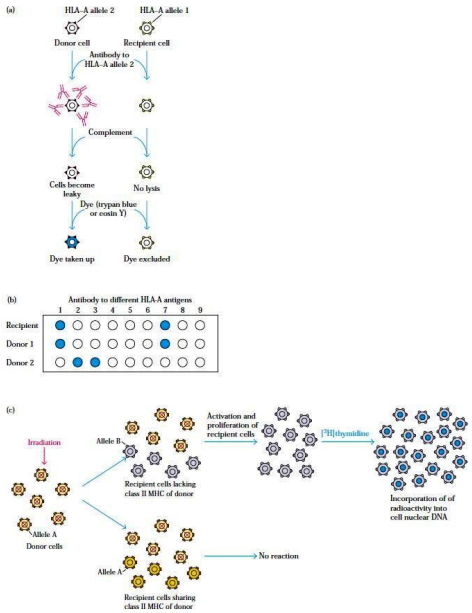
آزمایش تعیین نوع HLA در دهندگان بالقوه و گیرنده را می‌توان توسط آزمایش میکروسیتوتوکسیسیته انجام داد (شکل a,b ۴-۱۷). در این آزمایش، گلبول‌های سفید افراد دهنده و فرد گیرنده در چاهک‌های یک پلیت توزیع می‌شود و سپس آنتی‌بادی‌هایی علیه آلل‌های مختلف MHC کلاس I و II به چاهک‌های مختلف اضافه می‌شود. پس از انکوباسیون، کمپلمان نیز به چاهک‌ها افزوده شده و در نهایت، سیتوتوکسیسیته را از روی جذب و یا عدم جذب رنگ‌های مختلف (مثل ائوزینY یاتریپان بلو) توسط سلول، می‌سنجند. در صورتی که گلبول‌های سفید آللی از MHC را بیان کند که آنتی‌بادی اختصاصی آن نیز به چاهک اضافه شده باشد، اضافه کردن کمپلمان موجب لیز شدن سلول شده و چنین سلولی رنگ تریپان بلو را جذب می‌کند. در نتیجه با این روش می‌توان به حضور یا عدم حضور آلل‌های مختلف MHC پی‌برد.

حتی هنگامی که یک دهنده کاملاً سازگار از نظر HLA نیز وجود نداشته باشد، پیوند ممکن است موفقیت‌آمیز باشد. در این شرایط، جهت تعیین کمیت میزان سازگاری MHC کلاس II بین دهنده و گیرنده از واکنش مختلط لنفوسیتی (MLR) استفاده میشود (شکل ۴c-۱۷).

www.bbooks.ir

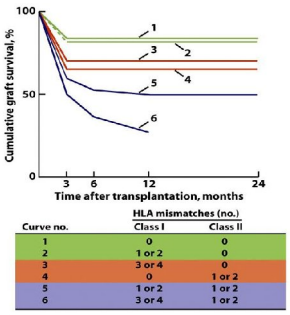
در این روش از لنفوسیت‌های اشعه دیده یا مجاور شده با مایتومایسین C فرد دهنده به عنوان تحریک کننده و از لنفوسیت‌های گیرنده به عنوان پاسخ دهنده استفاده می‌گردد. تکثیر سلول‌های T گیرنده که نشان‌دهنده فعالیت آنها می‌باشد با اندازه‌گیری میزان برداشت تیمیدین [^{3}H] توسط DNA سلولی، محاسبه می‌شود. هر چه تفاوت‌های MHC کلاس II بین سلول‌های دهنده و گیرنده پیوند بیشتر باشد، میزان برداشت تیمیدین [^{3}H] در واکنش MLR بیشتر خواهد بود. تکثیر زیاد لنفوسیت‌های گیرنده، نشان دهنده پیش‌آگهی ضعیف بقای پیوند می‌باشد. مزیت MLR نسبت به روش میکروسیتوتوکسیسیته در این است که میزان فعالیت سلول‌های T_H را در پاسخ به آنتی‌ژن‌های MHC کلاس II یک بافت بهتر نشان می‌دهد. عیب روش MLR نیز زمان طولانی انجام آن می‌باشد که چندین روز است. در صورتی که دهنده، یک جسد باشد، نمی‌توان منتظر نتایج MLR بود، بدلیل این که عضو پس از خارج شدن از جسد می‌بایست بلافاصله مورد استفاده قرار گیرد. در این مورد از روش میکروسیتوتوکسیسیته استفاده می‌شود که تا چند ساعت قابل انجام می‌باشد.

www.bbooks.ir



شکل ۴-۱۷: روش های تعیین آنتی ژن های HLA. (a و b) تعیین HLA با روش میکروسیتوتوکسیسیتی و MLR (c) برای تعیین ماهیت آنتی ژن های کلاس II بین دهنده و گیرنده.

با جمع‌آوری اطلاعات از گیرندگان پیوند کلیه، اهمیت تطـابق MHC بـرای قبـول پیونـد مشخص گردید.



شکل ۵-۱۷: اثر ناسازگاری HLA-I و II بر روی بقای پیوندهای کلیه. ناسازگاری بین یک یا دو آنتی ژن کلاس I اثر اندکی بر روی بقای پیوند دارد. زمانی که هر دو آنتی ژن های کلاس I و II ناسازگار باشند، پس زدن شدیدتر می باشد.

www.bbooks.ir

داده‌های شکل ۵-۱۷ نشان می‌دهند که بقای پیوندهای کلیه در ابتدا به سازگاری آنتی‌ژن‌های MHC کلاس II وابسته می‌باشد. تطابق یا عدم تطابق آنتی‌ژن‌های MHC کلاس I اثر چندانی بربقای پیوند ندارند مگر آنکه بین آنتی‌ژن‌های کلاس II نیز اختلاف وجود داشته باشد. میزان بقای دو ساله کلیه پیوند شده‌ای که در یک یا دو لوکوس HLA کلاس I ناسازگاری وجود دارد ۹۰٪ می‌باشد، در حالی که احتمال بقای دو ساله در مورد پیوندهای کلیه‌ای که از نظر MHC کلاس II متفاوت می‌باشند؛ ۷۰٪ می‌باشد. هر چه تعداد عدم تطابق MHC بیشتر باشد، میزان احتمال بقای پیوند کمتر می‌باشد. همانطور که در زیر شرح داده خواهد شد، تطابق HLA در پیوند کلیه و مغز استخوان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و پیوندهای کبد و قلب با وجود ناسازگاری‌های بیشتر HLA نیز ممکن است باقی بمانند.

تأثیر تطابق HLA اخیراً توسط مطالعه‌ای که بر روی بیماران پیوند کلیه‌ای اروپایی صورت گرفته، تأیید شده‌است. این داده‌های جدید نشان می‌دهند که میزان بقای ۳۶ ماهه پیوندهای انجام شده بین سال‌های ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۰ تقریباً تا ۹۰٪ افزایش یافته بود که این مقدار در مورد پیوندهای انجام شده بین سال‌های ۱۹۶۶ تا ۱۹۷۰، ۵۰٪ بود. این افزایش بقا به دلیل روش‌های بهتر و مؤثر سرکوب ایمنی می‌باشد.

دانسته‌های کنونی ما از **پذیرنده‌های کشندگی شبه ایمونوگلبولینی**[1] (KIRs) سلول‌هایNK (فصل ۱۴) پیشنهاد می‌کند که عدم حضور آنتی‌ژن‌های کلاس I توسط مولکول‌های KIR خاصی شناخته شده و منجر به کشته‌شدن سلول بیگانه می‌گردد. در پیوندهای مغز استخوانی که مولکول کلاس I که توسط پذیرنده‌های مهاری سلول NK شناخته شده بود و در سلول‌های دهنده وجود نداشتند، رد پیوند دیده شد.

همسانی MHC بین دهنده و گیرنده تنها عامل تعیین‌کننده قبول بافت نمی‌باشد. هنگامی که پیوند بین دو شخص متفاوت از نظر ژنتیکی صورت گیرد، حتی اگر آنتی‌ژن‌های MHC

1- killer cell immunoglobulin-like receptor

www.bbooks.ir

یکسان باشند، باز ممکن است بدلیل تفاوت‌هایی که در ناحیه سازگاری بافتی فرعی وجود دارند، پیوند پس‌زده شود. همانطور که در فصل ۹ توضیح داده شد، آنتی‌ژن‌های MHC مستقیماً توسط سلول‌های T_H و Tc شناسایی می‌شوند. در طرف مقابل، آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی فرعی تنها زمانی که با مولکول‌های MHC خودی عرضه می‌شوند، شناسایی می‌شوند. رد پیوندی که توسط اختلاف آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی فرعی القا می‌شود، نسبت به رد پیوند در اثر تفاوت‌های مولکول‌های MHC از شدت کمتری برخوردارند. با این وجود، واکنش به تفاوت‌های بافتی فرعی اغلب منجر به رد پیوند خواهد شد. به این دلیل، پیوند موفق حتی بین افراد یکسان از نظر HLA، به مقادیری از سرکوب ایمنی نیاز دارد.

- پس‌زدن پیوند با واسطه سلول در دو مرحله رخ می‌دهد

اصولاً پس زدن پیوند توسط یک پاسخ ایمنی سلولی به آلوآنتی‌ژن‌ها (مولکول‌های MHC) که بر سطح سلول‌های پیوند بیان می‌شوند ایجاد می‌شود و هر دو نوع واکنش‌های ازدیاد حساسیت تأخیری و واکنش‌های سیتوتوکسیسیتی سلولی قابل مشاهده می‌باشند. فرآیند رد پیوند را می‌توان به دو مرحله تقسیم کرد: (۱) مرحله حساس‌سازی که لنفوسیت‌های واکنش‌دهنده به آنتی‌ژن در گیرنده در پاسخ به آلوآنتی‌ژن‌های موجود بر سطح پیوند تکثیر می‌شوند.(۲) مرحله عملکردی که طی آن تخریب ایمنی پیوند صورت می‌گیرد.

- مرحله حساس‌سازی

در مرحله حساس‌سازی، سلول‌های $TCD4^+$ و $TCD8^+$ ، آلو آنتی‌ژن‌های بیان شده در سلول‌های پیوند بیگانه را شناسایی کرده و در پاسخ به آنها تکثیر می‌گردند. هر دو نوع آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی اصلی و فرعی می‌توانند مورد شناسایی قرار گیرند. عموماً پاسخ به آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی فرعی ضعیف می‌باشد در حالی که مجموع پاسخ‌هایی که به

www.bbooks.ir

چندین تفاوت فرعی داده می‌شود، گاهی اوقات نسبتاً شدید می‌باشد. پاسخ به آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی اصلی شامل شناسایی مولکول MHC دهنده و پپتید موجود در شکاف مولکول MHC می‌باشد. پپتیدهایی که در شیار مولکول‌های MHC کلاس I قرار می‌گیرند از پروتئین‌های داخل سلول‌های آلوژنیک مشتق شده‌اند. پپتیدهایی که در شیار مولکول‌های MHC کلاس II قرار می‌گیرند عمدتاً پروتئین‌هایی هستند که از طریق اندوستیوز وارد سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن (APC) شده و مورد پردازش قرار گرفته‌اند. با میانکنش سلول T_H میزبان و سلول عرضه‌کننده آنتی‌ژن که هم مجموعه لیگاند-MHC مناسب را بیان کرده و هم پیام‌های کمک تحریکی مناسب را فراهم می‌کند، T_H فعال می‌گردد. بر مبنای نوع بافت، جمعیت‌های سلولی مختلفی در پیوند، به عنوان APC عمل می‌کنند. بدلیل این که سلول‌های دندریتیک در اکثر بافت‌ها یافت می‌شود و بدلیل بیان مداوم مقادیر بالایی از MHC کلاس II، سلول‌های دندریتیک به عنوان APC اصلی در پیوندها می‌باشند. APCهای میزبان نیز ممکن است به داخل پیوند مهاجرت کرده و آلوآنتی‌ژن‌های بیگانه را اندوستیوز کرده و آنها را به صورت پپتیدهای پردازش شده همراه با مولکول‌های MHC خودی عرضه کنند.

در برخی پیوندهای بافت و عضو (مثل پیوندهای کلیه، تیموس و جزایرپانکراس)، جمعیتی از APCهای دهنده از پیوند به گره‌های لنفاوی محیطی مهاجرت می‌کنند. این APCها، سلول‌های دندریتیکی بوده که مقادیر بالای MHC کلاس II را (همراه با مقادیر طبیعی MHC کلاس I) بیان کرده و به صورت گسترده‌ای در تمام بافت‌های پستانداران به غیر از بافت معز گسترش دارند. بدلیل این که APCها آنتی‌ژن‌های MHC آلوژنیک دهنده را بیان می‌کنند، به عنوان بیگانه قلمداد شده و در نتیجه قادر به تحریک لنفوسیت‌های T گره لنفی می‌باشند. در برخی شرایط تجربی نشان داده شده که این APCهای دهنده که دارای پذیرنده‌های اختصاصی سلول‌های T هستند موجب حذف جمعیت سلولی T تیموس و القای تحمل می‌گردند.

www.bbooks.ir

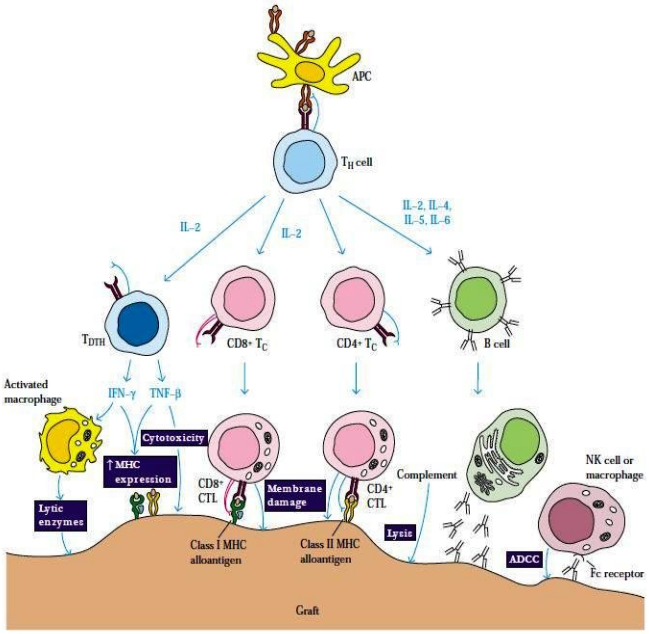
سلول‌های دندرتیک دهنده پیوند که به عنوان APC عمل می‌کنند، تنها سلول‌های درگیر در تحریک ایمنی نمی‌باشند. در حقیقت به نظر می‌رسد که آنها هیچ نقشی در رد پیوند پوست بازی نمی‌کنند. سایر سلول‌هایی که در عرضه آلوآنتی‌ژن‌ها به سیستم ایمنی شرکت دارند، شامل سلول‌های لانگرهانس و سلول‌های اندوتلیال پوشاننده عروق خونی می‌باشند. هر دو نوع این سلول‌ها آنتی‌ژن‌های MHC کلاس I و II را بیان می‌کنند.

شناسایی آلوآنتی‌ژن‌های موجود بر سطح سلول‌های بافت پیوندی موجب تکثیر شدید سلول‌های T میزبان می‌گردد این تکثیر را می‌توان در واکنش مختلط لنفوستی در in vitro نشان داد (شکل ۴c-۱۷). هر دو سلول دندریتیک و اندوتلیال عروق بافت پیوندی، تکثیر سلول‌های T میزبان را القا می‌کنند. سلول اصلی تکثیر شونده TCD4+ بوده که آلوآنتی‌ژن‌های کلاس II را یا به صورت مستقیم و یا پپتیدهای آلوآنتی‌ژنی عرضه شده توسط APCهای خودی را به صورت غیرمستقیم شناسایی می‌کنند. این جمعیت تکثیر شده از سلول‌های T_H فعال نقش اصلی را در مکانیسم‌های متنوع رد پیوند آلوگرافت بازی می‌کنند.

- مرحله عملکرد

مکانیسم‌های عملکردی متنوعی در رد پیوند آلوگرافت شرکت دارند (شکل ۶-۱۷).

www.bbooks.ir



شکل ۶-۱۷: مکانیسم های اجرایی دخیل در پس زدن پیوند. شکل گیری یا فعالیت سلول های اجرایی مختلف، به صورت مستقیم یا غیر مستقیم به سایتوکاین های ترشح شده از سلول های T_H بستگی دارد.

شایع‌ترین آنها واکنش‌های سلولی بوده که شامل ازدیاد حساسیت تأخیری و سیتوتوکسیسیته با واسطه CTL می‌باشند؛ مکانیسم‌هایی مانند لیز با واسطه آنتی‌بادی و کمپلمان و تخریب توسط ADCC از شیوع کمتری برخوردارند. نشانه اصلی رد پیوند با واسطه سلول، ترشح سلول‌های T و ماکروفاژها به داخل بافت پیوندی می‌باشد. از نظر بافت‌شناسی، این ترشح در بسیاری از موارد، مشابه ترشحی است که در پاسخ ازدیاد حساسیت تأخیری به چشم می‌خورد که در آن، سایتوکاین‌های تولید شده توسط سلول‌های T موجب ارتشاح ماکروفاژها می‌گردند(شکل ۵-۱۴). شناسایی توسط سلول‌های $TCD8^+$ میزبان یا از طریق آلوآنتی‌ژن‌های کلاس I بیگانه موجود در پیوند یا عرضه متقاطع

www.bbooks.ir

آلوآنتی‌ژن‌ها همراه با MHC کلاس I توسط سلول‌های دندریتیک می‌تواند منجر به کشتن با واسطه CTL گردد (شکل ۱۶-۹).

در هر کدام از این مکانیسم‌های عملکردی، سایتوکاین‌های ترشح شده توسط T_H نقش مرکزی ایفا می‌کنند(شکل ۶-۱۷). برای مثال IL-2، IFN-γ، TNF-β میانجی‌های مهمی در رد پیوند می‌باشند. IL-2 برای تکثیر سلول‌های T و تولید CTLهای کارآمد ضروری می‌باشد (شکل ۱-۱۴). IFN-γ نقش مرکزی در شکل‌گیری پاسخ ازدیاد حساسیت تأخیری، ترشح ماکروفاژها به داخل بافت پیوندی و فعال شدن آنها و تبدیل به سلول‌هایی مخرب‌تر دارد. TNF-β دارای آثار سلول‌کشی مستقیم بر روی بافت پیوندی می‌باشد. تعدادی از سایتوکاین‌ها با القای بیان مولکول‌های MHC کلاس I و II بر سطح سلول‌های پیوندی به رد پیوند کمک می‌کنند. اینترفرون‌ها (α، β، γ)، TNF-α و TNF-β همگی بیان MHC کلاس I را افزایش می‌دهند. IFN-γ موجب افزایش بیان MHC کلاس II می‌گردد.

در طول دوره رد پیوند، سطوح این سایتوکاین‌ها افزایش یافته و بیان مولکول‌های MHC کلاس I و II در سلول‌های مختلف موجود در پیوند افزایش می‌یابد. برای مثال در پیوند قبل رت، سلول‌های دندریتیک در ابتدا تنها سلول‌هایی هستند که MHC کلاس II را بیان می‌کنند. هر چند که با شروع واکنش‌های آلوگرافت، تولید موضعی IFN-γ در بافت پیوندی موجب، بیان MHC کلاس II در سلول‌های اندوتلیال عروق و میوسیت‌ها شده و آنها به عنوان اهدافی برای حمله CTL در می‌آیند.

در توضیح کامل تأثیر سایتوکاین‌ها بر روی پیوندهای آلوگرافت، می‌بایست اثرات ایجاد کننده تحمل در برابر بافت بیگانه را نیز مدنظر داشت. در حالی که IL-12 و IL-15 جزو سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌باشند.

www.bbooks.ir

- نمود بالینی رد پیوند

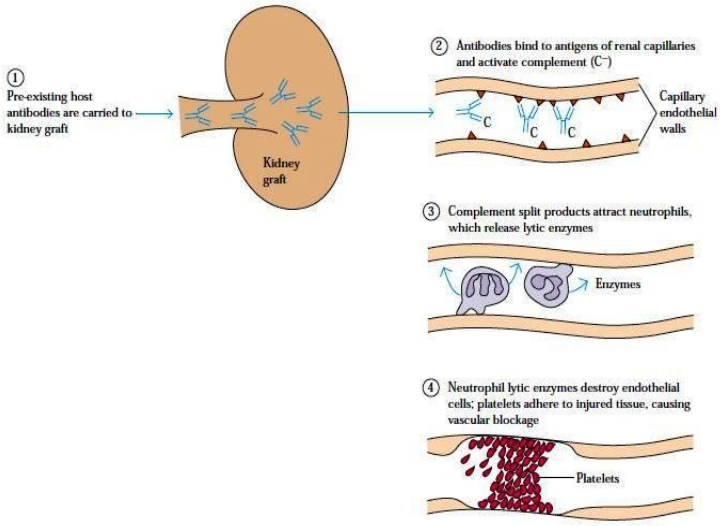
واکنش‌های رد پیوند، بسته به نوع بافت یا عضو پیوندی و نوع پاسخ ایمنی، دارای دوره‌های زمانی مختلفی می‌باشند. واکنش‌های رد پیوند فوق حاد تا ۲۴ ساعت پس از پیوند روی می‌دهند، رد پیوند حاد معمولاً در چند هفته اول پس از پیوند و واکنش‌های رد پیوند مزمن پس از چند ماه تا چند سال رخ می‌دهند.

- آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده میزبان موجب رد پیوند فوق‌حاد می‌گردند

در موارد نادری، یک پیوند با سرعتی پس‌زده می‌شود که در بافت پیوندی هرگز رگ‌سازی دیده نمی‌شود. این واکنش‌های فوق‌حاد به دلیل حضور آنتی‌بادی‌های از پیش ساخته شده موجود در سرم میزان بوده که علیه آنتی‌ژن‌های پیوند می‌باشند. مجموعه‌های آنتی‌ژن – آنتی‌بادی که کمپلمان را فعال می‌کنند، منجر به ارتشاح نوتروفیل‌ها به داخل بافت پیوندی می‌گردند. واکنش‌های التهابی بعدی موجب شکل‌گیری لخته‌های خونی ومسدودشدن مویرگ‌ها گشته و از رگ‌دار شدن بافت پیوندی ممانعت به عمل می‌آورند (شکل ۷-۱۷).

مکانیسم‌های متعددی را می‌توان برای حضور آنتی‌بادی‌های از پیش ساخته شده علیه آنتی‌ژن‌های MHC به حساب آورد. دریافت کنندگان متفاوت خون، بعضی اوقات مقادیر قابل توجهی آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های MHC که بر روی سلول سفید خونی بیان می‌شوند را تولید می کنند. در صورتی که برخی از این آنتی‌ژن‌های MHC، مشابه با آنتی‌ژن‌های موجود بر سطح بافت پیوندی می‌باشد. این آنتی‌بادی‌ها با پیوند واکنش داده و موجب رد فوق حاد پیوند می‌گردند. در بارداری مکرر، زن با آلوآنتی‌ژن‌های پدری جنین برخورد داشته و ممکن است علیه آنها آنتی‌بادی بسازد. در آخر، افرادی که پیوند قلبی داشته‌اند، ممکن است مقادیر بالایی از آنتی‌بادی را علیه آنتی‌ژن‌های MHC آلوژن بافت پیوندی، داشته باشند.

www.bbooks.ir



شکل ۷-۱۷: مراحل پس زدن فوق حاد یک پیوند کلیه.

در برخی موارد، ممکن است آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده که در رد پیوند فوق حاد دخالت دارند، اختصاصی آنتی‌ژن‌های گروه خونی پیوند باشند. در صورتی که قبل از پیوند، آزمایش‌های تعیین بافت و تعیین گروه خونی ABO صورت پذیرد، این آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده شناسایی می‌گردند و از پیوندهایی که منجر به رد پیوند فوق حاد می‌گردند اجتناب می‌شود. بدلیل حضور آنتی‌بادی، علیه آنتی‌ژن‌های سلولی گونه‌دهنده که درگونه‌های گیرنده حضور ندارند، زنوگرافت‌ها اغلب با رد پیوند فوق حاد پس‌زده می‌شوند.

علاوه بر رد پیوند فوق حاد که در اثر آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده ایجاد می‌شود، نوع کم‌یاب‌تری از ردپیوند به نام رد پیوند تسریع شده وجود دارد که عامل ایجاد کننده آن تولید بلافاصله آنتی‌بادی پس از انجام پیوند می‌باشد.

www.bbooks.ir

- رد پیوند حاد در اثر پاسخ‌های سلول T ایجاد می‌شود.

رد پیوند با واسطه سلول به عنوان یک رد حاد پیوند قلمداد شده که تقریباً ۱۰ روز پس از انجام پیوند، آغاز می‌شود (شکل ۱b-۱۷). آزمایشات بافت‌شناسی، یک ارتشاح شدید از ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها را در جایگاه تخریب بافت نشان می‌دهند که احتمالاً نشان‌دهنده فعال شدن و تکثیر سلول‌های T_H می‌باشد.

- رد پیوند مزمن، ماهها یا سالها پس از پیوند رخ می‌دهد

واکنش‌های پس‌زدن مزمن پیوند، ماهها یا سالها پس از بررسی واکنش‌های رد پیوند حاد شکل‌گرفتند. مکانیسم‌های رد مزمن پیوند شامل هر نوع پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی میزبان می‌باشند. علیرغم کاربرد داروهای سرکوبگر ایمنی و کاربرد روش‌های تعیین بافت به منظور به حداکثر رساندن تطابق گیرنده و دهنده پیوند که منجر به افزایش شدید درست است بقا طی یک سال پس از انجام عمل پیوند گردیده، تدابیر کمتری برای بقای طولانی مدت پیوند اندیشده شده است. استفاده از داروهای سرکوبگر ایمنی، که در زیر شرح داده می‌شوند، موجب افزایش شدید بقای کوتاه مدت پیوند گردیده ولی در اغلب موارد از رد پیوند مزمن جلوگیری نمی‌کنند. داده‌های رد پیوند کلیه از سال ۱۹۷۵ نشانگر افزایش بقای یکساله پیوند از ۴۰٪ به ۹۰٪ می‌باشند. هر چند که درهمین فاصله زمانی، بقای طولانی مدت پیوند، افزایش اندکی داشته است.

کنترل واکنش‌های رد پیوند مزمن، با داروهای سرکوبگر ایمنی مشکل بوده و ممکن است به پیوند دیگری نیاز باشد.

- درمان سرکوب ایمنی متداول

به منظور بقای پیوند آلوژنیک به مقادیری از سرکوب ایمنی نیاز می‌باشد. اکثر درمان‌های سرکوب ایمنی موجود دارای معایبی مثل غیراختصاصی بودن، که منجر به سرکوب عمومی

www.bbooks.ir

ایمنی در برابر تمام آنتی‌ژن‌ها و نه تنها آلوآنتی‌ژن‌های موجود در پیوند می‌گردد، بوده که فرد را در معرض افزایش احتمال ابتلا به عفونت‌ها و سرطان‌های لنفاوی قرار می‌دهند. علاوه بر آن بسیاری از ابزارهای سرکوب ایمنی به منظور کم کردن سرعت تکثیر لنفوسیت‌های فعال شده به کار رفته که این درمان، هر سلول غیر ایمنی که تقسیم سریع دارد را تحت تأثیر قرار می‌دهد (مثل سلول‌های اپی‌تلیال روده یا سلول‌های بنیادی خونساز مغز استخوان) و منجر به عوارض جدی و حتی تهدیدکننده زندگی می‌گردد. در بیمارانی که تحت درمان‌های طولانی مدت با داروهای سرکوبگر ایمنی قرار دارند، احتمال سرطان، افزایش فشار خون و بیماری متابولیک استخوان افزایش می‌یابد.

- مهار کننده‌های میتوز تکثیر سلول‌های T را مهار می‌کنند

در سال ۱۹۵۹ رابرت شوارتز[1] و ویلیام دامشک[2] گزارش کردند که درمان با ۶- مرکاپتوپورین موجب سرکوب پاسخ‌های ایمنی در مدل های حیوانی می‌شود. سپس جوزف مورای[3] و همکارانش تعدادی از آنالوگ‌های ۶- مرکاپتوپورین را به منظور استفاده در پیوندهای انسانی بررسی کردند و موفق به یافتن آزاتیوپرین شدند که در ترکیب با کورتیکواستروئیدها موجب افزایش چشمگیری در بقای آلوگرافت‌ها می گردیدند. مورای به دلیل این پیشرفت بالینی موفق به دریافت جایزه نوبل در سال ۱۹۹۱ شد و سازندگان این دارو که گرترود الیون[4] و جرج هیچینگز[5] بودند نیز جایزه نوبل را در سال ۱۹۸۷ از آن خود کردند.

1- R. Schwartz
2- W. Domeshek
3- J. Murray
4- G-Elion
5- G.Hitchings

www.bbooks.ir

آزاتیوپرین (ایموران) یک مهار کننده قوی میتوز بوده و قبل و بعد از انجام پیوند تجویز گردیده که موجب کاهش تکثیر سلول T در پاسخ به آلوآنتی‌ژن‌های پیوند می‌شود. آزایتوپرین بر روی سلول‌های موجود در مرحله S چرخه سلولی تأثیر داشته و سنتز اسیداینوزینیک که پیش‌ساز پورین‌هایی مثل اسید آدنیلیک و اسیدگوانیلیک می‌باشد را مهار می‌کند.

در حضور آزاتیوپرین، تکثیر سلول‌های B و T کاهش می‌یابد. آزمون‌های عملکردی ایمنی مثل MLR، CML و آزمون های پوستی پس از درمان با آزاتیوپرین کاهش داشته که نشان دهنده کاهش کلی در تعداد سلول‌های T می‌باشد.

مهارکننده‌های دیگر میتوز که برخی اوقات همراه با مواد سرکوبگر ایمنی به کار می‌روند، سیکلوفسفامید، مایکوفنولات موفتیل و متوتروکسات می‌باشند. سیلکوفسفامید یک ماده آلکیله کننده بوده که در مارپیچ DNA وارد شده و موجب تخریب زنجیره DNA می‌گردد. این ماده اختصاصاً علیه سلول‌هایی که تقسیم سریع دارند، مؤثر بوده و به همین دلیل بعضی‌اوقات هنگام عمل پیوند جهت مهار تکثیر سلول‌های T به کار می‌رود. مایکوفنولات موفتیل از کپک پنی‌سیلیوم مشتق شده و سنتز پورین را مهار می‌کند. متوتروکسات به عنوان آنتاگونیست اسیدفولیک عمل کرده و بیوسنتز پورین را مهار می‌کند.

- کورتیکواستروئیدها التهاب را سرکوب می‌کنند

همان‌طور که در فصل ۱۶ توضیح داده شد، کورتیکواستروئیدهایی مثل پردنیزون و دگزامتازون مواد ضد التهابی قدرتمندی هستند که اثراتشان را بر سطوح مختلف پاسخ ایمنی اعمال می‌کنند. این داروها اغلب همراه با سرکوبگرهای ایمنی به گیرندگان پیوند داده می‌شوند تا از رد پیوند جلوگیری شود.

www.bbooks.ir

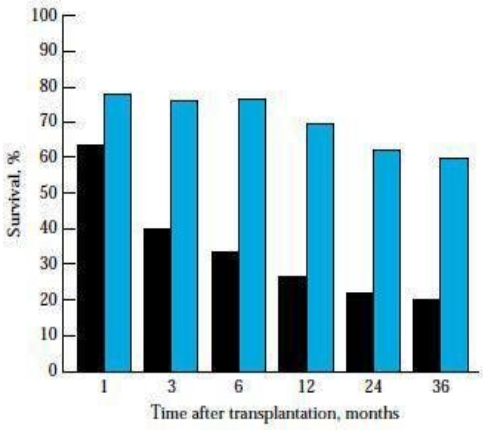
- متابولیت‌های قارچی خاص سرکوبگر ایمنی می‌باشند

با کاربرد سایکلوسپورین A (CsA)، FK506 (تاکرولیموس) و راپامایسین (سیرولیموس) که متابولیت‌های قارچی با خاصیت سرکوب ایمنی می‌باشند. سرکوب ایمنی اختصاصی‌تری ممکن گشت. علیرغم ساختار شیمیایی غیر مرتبط CsA، FK506 ولی اعمال یکسانی از آنها به چشم می‌خورد. هر دوی این داروها با مهار رونویسی از ژن‌های کد کننده IL-2 و پذیرنده IL-2 با میل ترکیبی بالا، که برای فعالیت سلول‌های T ضروری می‌باشند، از فعالیت سلول‌های T در حال استراحت جلوگیری می‌کنند. این دو دارو عمل خود را با اتصال به پروتئین پلاسمایی به نام ایمونوفیلین انجام می‌دهند که مجموعه حاصل فعالیت فسفاتازی کلسینورین را مهار، می‌کند که این منجر به جلوگیری از تشکیل و انتقال هسته‌ای زیر واحد سیتوپلاسمی NFATc و در پی آن تشکیل NFAT که یک پروتئین متصل شونده به DNA است و نقش فاکتور رونویسی را برای ژن‌های کدکننده تعدادی از مولکول‌های مهم جهت فعالیت سلول‌های T بازی می‌کند، می‌شود (شکل ۱۲-۱۰). راپامایسین از نظر ساختار مشابه FK506 بوده و به ایمونوفیلین نیز اتصال می‌یابد. هر چند که مجموعه راپامایسین-ایمونوفیلین، فعالیت کلسینورین را مهار نمی‌کند و در عوض از تکثیر و تمایز سلول‌های T_H و در نتیجه مهار بیان سایتوکاین توسط T_H، موجب کاهش فعالیت جمعیت‌های سلولی با اعمال متنوع که در رد پیوند دخالت دارند، می‌شوند که شامل سلول‌های T_H، سلول‌های Tc، سلول‌های NK، ماکروفاژها و سلول‌های B می‌باشند.

خصوصیات سرکوب‌کنندگی ایمنی این سه ماده آنها را به نقاط اتکا در پیوندهای قلب، کلیه، کبد و مغز استخوان تبدیل کرده است. در مطالعه‌ای که بر روی ۲۰۹ مورد پیوند کلیه از جسد صورت گرفت، میزان بقای یکساله پیوند در گیرندگانی که داروی سرکوبگر ایمنی دیگری دریافت کرده بودند ۶۴٪ و این میزان درمورد کسانی که سایکلوسپورین A دریافت کرده بودند ۸۰٪ بود.

www.bbooks.ir

چنین نتایجی در مورد پیوندهای کبد نیز بدست آمد (شکل ۸-۱۷). علیرغم این نتایج مؤثر، CsA دارای برخی آثار جانبی نیز می‌باشد که قابل ذکرترین آنها سمیت آن برای کلیه می‌باشد.



شکل ۸-۱۷: مقایسه میزان بقای پیوند های کبد در ۸۴ بیمار که در نتیجه مصرف کورتیکواستروئیدها و آزاتیوپرین (سیاه رنگ) با میزان بقا در ۵۵ بیمار که با سایکلوسپورین A و کورتیکواستروئیدها (خاکستری رنگ) ایمنی آنها سرکوب شده است.

مسمویت حاد کلیوی نسبتاً شایع بوده، در برخی موارد تا مسمومیت کلیوی مزمن و نقص کلیوی القا شده در اثر دارو پیش می‌رود. از نظر قدرت سرکوب ایمنی، Fk506 و راپامایسین ۱۰ تا ۱۰۰ بارقوی‌تر از CsA بوده و در نتیجه می‌توان آنها را با دوزهای پایین‌تری تجویز کرد که آثار جانبی کمتری نسبت به CsA داشته باشند.

- اشعه دادن موجب حذف لنفوسیت‌ها می‌گردد

بدلیل این که لنفوسیت‌ها در برابر اشعه x بسیار حساس می‌باشند، می‌توان از پرتو افشانی x جهت حذف آنها در گیرنده پیوند و قبل از انجام عمل پیوند بهره‌برد. قبل از انجام عمل جراحی، گیرنده چندین بار در نواحی تیموس، طحال و غدد لنفاوی با اشعه x برخورد می‌کند.

www.bbooks.ir

پروتکل معمول اشعه دادن x به صورت مواجهه روزانه به مقدار ۲۰۰ رادپرتو در روز به مدت چندین هفته بوده تا به صورت مجموع ۳۴۰۰ رادپرتو دریافت کند. در این حالت سرکوب شده ایمنی عمل پیوند انجام خواهد شد. بدلیل این که مغز استخوان اشعه نمی‌بیند، سلول‌های بنیادی لنفوئید تکثیر شده و جمعیت لنفوسیت‌های موجود در گردش خون را بازسازی می‌کنند. این لنفوسیت‌های تازه تشکل شده در برابر آنتی‌ژن‌های پیوند تحمل بیشتری از خود نشان می‌دهند.

- درمان سرکوب ایمنی اختصاصی

علاوه بر عوارض جانبی درمان‌های سرکوب ایمنی که دربالا شرح داده شد، محدودیت اصلی مشترک تمامی آنها، اختصاصی نبودن می‌باشد. در نتیجه یک سرکوب ایمنی کم و بیش عمومی و افزایش احتمال عفونت در گیرنده ایجاد خواهد شد. آنجه که به صورت ایده‌آل مورد نیاز می‌باشد یک سرکوبگر ایمنی اختصاصی برای آنتی‌ژن است که پاسخ ایمنی به تمام آلوآنتی‌ژن‌های پیوند را کاهش داده در حالی که توانایی میزبان جهت پاسخ به سایر آنتی‌ژن‌های بیگانه را حفظ کند. در حالی که تاکنون دستیابی به چنین هدفی درمورد پیوندهای انسانی محقق نشده است، موفقیت‌های اخیر در مورد آزمایشات حیوانی نشان می‌دهند که این امر امکان‌پذیر می‌باشد. در آزمایشات حیوانی استفاده از آنتی‌بادی‌ها یا لیگاندهای محلولی که علیه مولکول‌های سطح سلول واکنشگر می‌باشند موجب سرکوب ایمنی اختصاصی برای آلوگرافت‌ها گردیده است.

- آنتی‌بادی‌ها قادرند پاسخ‌های رد پیوند را مهار کنند

استفاده از آنتی‌بادی‌ها علیه مولکول‌های سطح سلولی در سیستم ایمنی می‌تواند فعالیت سلول‌های T را به صورت کلی و استفاده از آنتی‌بادی‌هایی که زیر جمعیتی از سلول‌های خاصی را هدف قرار می‌دهند می‌تواند فعالیت آن جمعیت را به صورت خاص مهار کند.

www.bbooks.ir

نتایج بررسی مدل‌های حیوانی پیشنهاد می‌کنند کـه آنتـی‌بـادی‌هـای منوکلونـال مشخصـی می‌توانند جهت مهار تنها سلول‌های T فعال شده به کاررروند. موفقیت‌های بدسـت آمـده از مطالعات حیوانی و کارآزمایی‌های انسانی کاربرد دو اسـتراتژی را بـرای سـرکوب پـس‌زدن پیوند مطرح کرده‌اند. ممکن است از آنتی‌بادی‌ها جهت تخلیه طیف خاص یا جمعیت سلولی خاصی درگیرنده استفاده شود؛ حالت دیگر، کاربرد آنتی‌بـادی‌هـا بـه منظـور بلـوک کـردن پیام‌های کمک تحریکی می‌باشد کـه در ایـن مـورد، در سـلول‌هـای T واکـنش دهنـده بـه آنتی‌ژن‌های موجود در آلوگرافت، حالت بی‌پاسخی القا می‌شود.

گلبولین ضد تیموسیت که از حیوانات بدست می‌آید، جهت تخلیه سـلول‌هـای T گیرنـده قبل از انجام پیوند به کار می‌رود. استراتژی دیگر جهت تخلیه سلول‌های ایمنـی، اسـتفاده از آنتی‌بادی منوکلونال ضد مولکول CD3 موجود در مجموعه TCR مـی‌باشـد. تزریـق چنـین آنتی‌بادی منوکلونالی منجر به تخلیه سریع سلول‌های T بالغ از گردش خون مـی‌شـود. ایـن تخلیه در اثر اتصال سلول‌های T پوشیده شده با آنتی‌بادی به پذیرنـده‌هـای Fc سـلول‌هـای فاگوسیتی و سپس پاکسازی سـلول‌هـای T از گـردش خـون توسـط فاگوسـیت‌هـا صـورت می‌پذیرد. در شکل اصلاح شده‌ای از این استراتژی، ماده‌ای سایتوتوکسیک مثل سم دیفتـری با آنتی‌بادی جفت شده‌است. سلولی که با آنتی‌بادی واکنش می‌دهد، سم را بـه داخـل خـود کشیده که موجب مرگ آن می‌شود. استراتژی دیگر، استفاده از آنتی‌بادی منوکلونـال علیـه پذیرنده با میل ترکیبی بالا برای IL-2 (CD25 که آنتی‌بادی منوکلونال به کـار رفتـه آنتـی CD25 می‌باشد) است. بدلیل این که CD25 تنها بر روی سـلول‌هـای T فعـال شـده بـارز می‌شود، مواجهه با آنتی‌بادی ضد CD25 پس از عمل پیوند، موجب مهار تکثیر سلول‌های T فعال شده در اثر آنتی‌ژن‌های پیوند خواهد شد. در مطالعات جدیدتر از آنتی‌بادی منوکلونال علیه CD20 استفاده شده تا سلول‌های B بالغ حذف شوند و پاسخ‌های رد پیونـد بـا واسـطه آنتی‌بادی مهار گردند.

www.bbooks.ir

درمان با آنتی‌بادی منوکلونال، که در ابتدا جهت تخلیه سلول‌های T به کار می‌رفت، در مورد مغز استخوان فرد دهنده پیوند نیز به کار می‌رود. چنین مواجهه‌ای جهت تخلیه مغز استخوان از سلول‌های T صلاحیت‌دار ایمنی صورت می‌گیرد. این‌ها سلول‌هایی هستند که با بافت‌های فرد گیرنده واکنش می‌دهند و موجب GVHD یا واکنش پیوند علیه میزبان (در زیر شرح داده می‌شود) می‌گردند. در تمام استراتژی‌های تخلیه سلول، ایزوتایپ‌هایی از آنتی‌بادی منوکلونال که سیستم کمپلمان را فعال می‌کنند، مؤثرترین انواع آنتی‌بادی‌ها می‌باشند.

پذیرنده‌های IL-2 با میل ترکیبی بالا و CD3 اهدافی هستند که بر سطح تمامی سلول‌های T فعال‌شده بارز می‌شوند. مولکول‌هایی که بر روی زیرجمعیت‌های خاص از سلول T بیان می‌شوند، نیز می‌توانند به عنوان اهدافی برای درمان سرکوب ایمنی به کار روند. برای مثال، مشخص شده که آنتی‌بادی منوکلونال علیه CD4 موجب افزایش بقای پیوند می‌شود. در یک مطالعه که بر روی میمون‌ها صورت گرفت، قبل از انجام پیوند کلیه، یک دوز بالای آنتی CD4 برای آنها تجویز شد. بقای پیوند در حیوانات دریافت کننده آنتی‌بادی در مقایسه با حیوانات گروه کنترل به شدت افزایش یافته بود. نکته جالب توجه این بود که آنتی‌بادی ضد CD4 موجب کاهش شمارش سلول‌های $CD4^{+}T$ نشده بود، بلکه آنها را وارد حالت سرکوب ایمنی کرده بود. این یک مثال از آنتی‌بادی‌های غیر تخلیه‌ای می‌باشد.

هدف دیگر درمان‌های با آنتی‌بادی منوکلونال، مولکول‌های چسبندگی سطح سلول می‌باشند. درمان همزمان با آنتی‌بادی‌های ضد مولکول‌های چسبان ICAM-1 و LFA-1 به مدت ۶ روز پس از پیوند قلب بین موش‌های آلوژنیک موجب بقای نامحدود پیوند می‌گردد. هر چند که تجویز هر کدام از این آنتی‌بادی‌ها به تنهایی از رد پیوند قلب جلوگیری نمی‌کند. نیاز به تجویز همزمان هر دو آنتی‌بادی منوکلونال احتمالاً منعکس کننده هم اثری مولکول‌های چسبان می‌باشد: LFA-1 علاوه بر ICAM-1 به ICAM-2 نیز اتصال می‌یابد و ICAM-1 نیز علاوه بر LFA-1 به Mac-1 (CD11b/CD18) و CD43متصل

www.bbooks.ir

می‌شود. تنها زمانی که تمامی جفت‌شدن‌های ممکن بین این مولکول‌های چسبان به صورت همزمان بلوک شود، چسبندگی و انتقال سیگنال مهار می‌شوند.

یک مشکل تجربی در استفاده از آنتی‌بادی‌ها جهت افزایش بقای پیوند در انسان‌ها، این است که آنها منشأ غیر انسانی دارند. اولین دریافت کنندگان آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی، اغلب به آنتی‌بادی‌های موشی پاسخ آنتی‌بادی می‌دادند که منجر به حذف سریع آنها از بدن می‌گشت. با ساختن آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی و آنتی‌بادی‌های کایمریک انسانی- موشی (شکل ۲۴-۵) این محدودیت برطرف شد.

بدلیل این که به نظر می‌رسد سایتوکاین‌ها نقش مهمی در رد پیوند بازی می‌کنند، استراتژی دیگر جهت افزایش بقای می‌پیوند، تزریق آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی علیه سایتوکاین‌های دخیل، به خصوص، TNF-α، IFN-γ و IL-2 به حیوانات می‌باشد. آنتی‌بادی‌های منوکلونال علیه TNF-α موجب افزایش زمان پیوندهای مغز استخوان در موش و کاهش وقوع GVHD می‌گردند. هر کدام از آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد IFN-γ و IL-2 در برخی موارد موجب افزایش بقای پیوند قلب در رت گردیده‌اند.

امروزه تعدادی از روش‌های جدید جلوگیری از واکنش‌های رد پیوند، تحت بررسی می‌باشند. در گزارشی که اخیراً توسط محققین مؤسسه‌های بهداشت استنفورد، فیرز و ملی به چاپ رسیده، نشان داده شده که مهار کننده JAK3، قبول پیوند در میمون‌ها را بالا می‌برد. این مهارکننده CP-690550 نام داشته، به صورت خوراکی تجویز شده و هیچ یک از عوارض شدید جانبی داروهای سرکوبگر ایمنی معمول را ندارد. مطالعات in vitro نشان می‌دهند که این مهار کننده، مانع فسفریلاسیون JAK3، Stat5 توسط IL-2 می‌گردد. بدلیل این که این ترکیب، اثرات کمی بر روی سایر کینازهای مرتبط دارد، اثری بر روی روندهای کلی خونسازی نداشته و موجب بیماری‌هایی مثل کم‌خونی، کمبود پلاکت و کاهش لنفوسیت‌ها نمی‌گردد.

www.bbooks.ir

- مهار پیام‌های کمک تحریکی موجب بی‌پاسخی می‌گردد

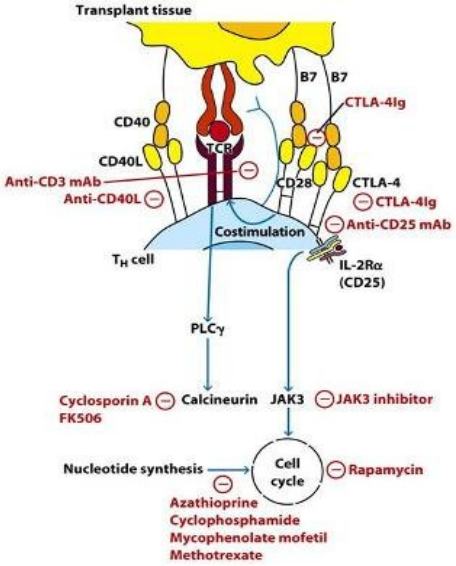
همان‌طور که در فصل ۱۰ توضیح داده شد، فعال شدن سلول T_H، علاوه بر پیام ایجاد شده در اثر پذیرنده سلول T، به یک پیام کمک تحریکی نیز نیاز دارد. میانکنش مولکول B7 موجود بر سطح سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن و CD28 یا CTLA-4 سطح سلول‌های T، چنین پیامی را مهیا می‌کند (شکل ۱۴-۱۰). فقدان پیام کمک تحریکی منجر به بی‌پاسخ شدن سلول T فعال شده در اثر آنتی‌ژن می‌گردد (شکل ۱۵-۱۰). CD28 بر سطح سلول‌های T درحال استراحت و فعال شده بیان شده و با میل ترکیبی متوسط به B7 اتصال می‌یابد؛ CTLA-4 در مقادیر بسیار کمتر و تنها بر سطح سلول‌های T فعال شده بیان می‌شود ولی میل ترکیبی آن ۲۰ برابر بیشتر از CD28 می‌باشد. دومین جفت از مولکول‌های کمک تحریکی که برای فعالیت سلول‌های T مورد نیاز می‌باشند، CD40 موجود بر سطح APC و لیگاند CD40 (CD154) موجود بر سطح سلول T هستند.

لنشو[1]، بلواستون[2] و همکارانشان نشان دادند که مهار پیام کمک‌تحریکی با واسطه B7 توسط شکل محلول CTLA-4 پس از پیوند، موجب بی‌پاسخی سلول‌های T میزبان در برابر پیوند و در نتیجه بقای پیوند خواهد شد. در آزمایش آنها، جزایرپانکراس انسانی به موش‌هایی که CTLA-4 Ig (یک پروتئین ترکیبی از دومن‌های خارج سلولی CTLA-4 و ناحیه ثابت زنجیره سنگین IgG1 که این ناحیه موجب افزایش نیمه عمر پروتئین محلول می‌گردد) دریافت کرده بودند پیوند زده شد. زنوگرانت‌ها در موش‌های دریافت کننده CTLA-4Ig بقای طولانی داشتند، در حالی که در موش‌های گروه کنترل به سرعت پس زده شدند. این حقیقت، شاهدی است بر مهار پیام‌های کمک تحریکی در شرایط in vivo به منظور بقای پیوند بافت انسانی به موش‌های گیرنده که شکل محلول پذینده CTLA-4 را دریافت کرده بودند.

1- D. J. Lenschow
2- A. Bluestone

www.bbooks.ir

موادی که در پیوندهای بالینی به کار می‌روند، همراه با جایگاههای اثرشان در شکل ۱۰-۱۷ خلاصه شده است.



شکل ۱۰-۱۷: جایگاه های فعالیت عوامل مختلف مورد استفاده در پیوند بالینی.

- تحمل ایمنی به آلوگرافت‌ها

در برخی موارد، ممکن است آلوگرافت بدون استفاده از روش‌های سرکوب ایمنی، پذیرفته شود. مسلماً در بافت‌هایی که فاقد آلوآنتی‌ژن‌ها می‌باشند مثل غضروف یا دریچه‌های قلب، هیچ مانع ایمونولوژیکی جهت انجام پیوند وجود ندارد اگر چه، برخی اوقات، یک پاسخ قدرتمند به آلوگرافت رخ نمی‌دهد. یک پیوند آلوگرافت از دو طریق می‌تواند پذیرفته شود: یکی هنگامی که سلول‌ها یا بافت پیوندی به جایگاههای مصون ایمنی پیوند زده می‌شوند که از دسترس سیستم ایمنی به دور می‌باشند یا هنگامی که به صورت بیولوژیک، حالت تحمل القا شود که این حالت معمولاً در اثر مواجهه قبلی فرد گیرنده با آنتی‌ژن‌های دهنده ایجاد شده و به جای حساس‌زایی گیرنده موجب تحمل ایمنی می‌گردد.

www.bbooks.ir

- جایگاههای مصون، ناسازگاری‌های آنتی‌ژنی را می‌پذیرند

در جایگاههای مصون ایمونولوژیک، پیوند آلوگرافت می‌تواند بدون واکنش‌های رد پیوند جایگزین شود. این جایگاهها شامل حفره داخلی چشم، قرنیه، رحم، بیضه و مغز می‌باشند.

کیسه گونه‌ای همستر نیز چنین مکانی است که جهت آزمایش به کار می‌رود. هر کدام از این جایگاهها با فقدان عروق لنفاوی و برخی موارد نیز با فقدان عروق خونی، مشخص می‌شوند. در نتیجه آلوآنتی‌ژن های پیوند، قادر به حساس‌سازی لنفوسیت‌های گیرنده نبوده و حتی در صورت سازگار نبودن HLA نیز امکان بقای پیوند افزایش می‌یابد.

حالت مصون قرنبه، پیوندهای قرنبه را بسیار موفقیت‌آمیز کرده است. مغز نیز یک جایگاه مصون ایمونولوژیک بوده زیرا سد خونی – مغزی از ورود و خروج بسیاری از مولکول‌ها، مثل آنتی‌بادی‌ها جلوگیری می‌کند. پیوند موفق سلول‌های جزایر پانکراس به تیموس رت‌های مدل دیابت پیشنهاد می‌کند که تیموس نیز ممکن است جزو یکی از جایگاههای مصون ایمونولوژیک باشد.

جایگاههای مصون ایمونولوژیک در القای پاسخ ایمنی ناتوان بوده زیرا به صورت مؤثری از دسترس سلول‌های سیستم ایمنی به دور می‌باشند. دریک مطالعه، سلول‌های جزایر پانکراس را با غشای نیمه تراوا (تهیه شده از یک کوپلی‌مر آکریلیک) پوشانده و سپس به موش‌های دیابتی پیوند زدند. این جزایر زنده ماندند و انسولین تولید کردند. سلول‌های پیوند شده، بدلیل این که سلول‌های ایمنی میزبان قادر به عبور از غشا نبودند، پس زده نشدند. این روش جدید پیوند باعث شد که موش‌های دیابتی مقادیر طبیعی انسولین را تولید کنند و می‌تواند جهت درمان دیابت انسانی نیز کاربرد داشته باشد.

www.bbooks.ir

- برخورد زودهنگام با آلوآنتی‌ژن‌ها می‌تواند تحمل اختصاصی را القا کند

در سال ۱۹۴۵، ری اون[1] گزارش کرد که دوقلوهای غیرهمسان گاو برخلاف سایر گونه‌های پستانداران، می‌توانند سلول‌ها یا بافت‌های یکدیگر را قبول کنند. وجود یک جفت مشترک در گاو به سلول‌های هر کدام از دوقلوها این اجازه را می‌دهد تا در جریانی آزاد بین گوساله‌های دوقلو در دوره جنینی حرکت کنند. با وجودی که ممکن است این دوقلوها، آنتی‌ژن‌های مجزای پدری یا مادری را به ارث برده باشند. ولی آنتی‌ژن‌های دوقلوی خود را به عنوان بیگانه نشناخته و پیوند از آن را قبول می‌کنند.

حمایت‌های تجربی جهت توجه به این که تحمل در نتیجه مواجهه ارگانیسم درحال تشکیل با آلوآنتی‌ژن‌ها ایجاد می‌شود از آزمایشات بر روی موش‌ها نشأت گرفتند. در صورتی که به نوزادان موش نژاد A، سلول‌های نژاد C تزریق شود، هنگام بلوغ پیوندهای نژاد C را قبول می‌کنند. صلاحیت ایمنی موش‌هایی از نژاد Aکه تزریق را دریافت کردند و همچنین تحمل اجتماعی آنها در این حقیقت مشخص می‌شود که پیوندهای سایر نژادها را به سرعت پس می‌زنند.

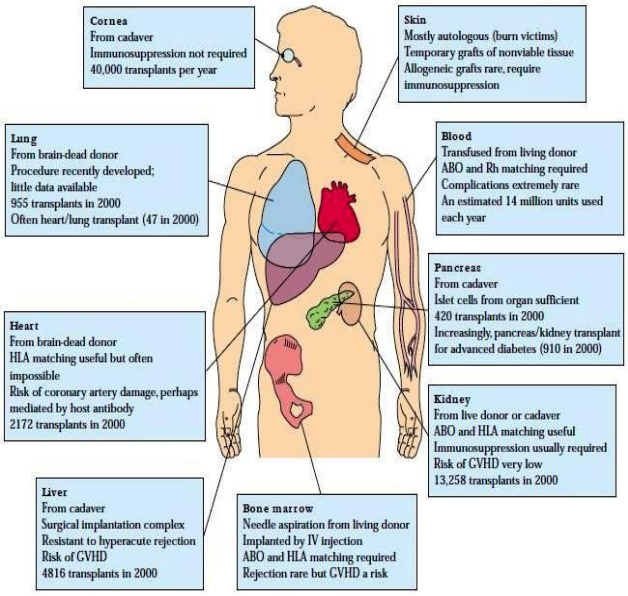
مثال‌هایی وجود دارند که نشان می‌دهند آلوگرافت‌هایی که تنها در یک لوکوس HLA ناسازگار می‌باشند، بدون هیچگونه سرکوب ایمنی پذیرفته می‌شوند. در مواردی که آنتی‌ژن غیر سازگار توسط مادر بیان می‌شوند و به فرزندان به ارث نمی‌رسد این احتمال وجود دارد که مواجهه پیش از تولد موجب القای تحمل نسبت به آن آنتی‌ژن گردد. بدلیل این که در حالت طبیعی، سلول‌های مادری قادر به عبور از جفت نمی‌باشند. چنین تحمل اختصاصی نسبت به آنتی‌ژن‌های مادری به ارث نرسیده، به جای یک رویداد شایع، نوعی استثنا به شمار می‌آید.

1- Ray Owen

www.bbooks.ir

- پیوند بالینی

در تعدادی از بیماری‌ها، پیوند تنها وسیله درمان می‌باشد.



شکل مروری ۱۱-۱۷: پیوندهایی که به طور رایج در طب بالینی استفاده می شوند.

شکل ۱۱-۱۷ پیوندهای سلول و اعضایی که امروزه انجام می‌شوند را به صورت خلاصه به نمایش درآورده است. علاوه بر آن، فراوانی پیوند ترکیب‌های مشخصی از اعضا مثل پیوند قلب و ریه یا کلیه و پانکراس نیز به صورت همزمان رو به افزایش می‌باشند. از زمان اولین پیوند کلیه در دهه ۱۹۵۰، تاکنون تقریباً ۴۷۰۰۰۰ کلیه در جهان پیوند زده شده است. دومین عضو پیوندی کبد (۷۸۰۰۰) و بعد از آن قلب (۵۵۰۰۰) می‌باشد. پیوندهای ریه (۱۰۰۰۰) و پانکراس (۳۵۰۰) در فاصله نسبتاً زیادی از پیوندهای یاد شده قرار دارند. تخمین زده می‌شود که تا پایان سال ۲۰۰۵ ، بیش از ۱۵۰۰۰۰ نفر در ایالات متحده با یک عضو پیوندی در حال زندگی باشند. همانطور که در بالا شرح داده شد، کاربرد داروهای سرکوبگر ایمنی موجب بقای کوتاه مدت بافت پیوندی خواهد شد ولی استفاده از آنها

www.bbooks.ir

مشکلات پزشکی را نیز به همراه خواهد داشت و در اغلب موارد، در نهایت به رد مزمن پیوند می‌انجامد. نیاز به پیوند مجدد پس از رد پیوند، کمبود بافت را که مانع اصلی استفاده گسترده پیوند می‌باشد، نمایان تر می‌کند. فراوانی پیوندهای یک بافت یا عضو مشخص به فاکتورهای زیر بستگی دارد:

- شرایط بالینی که پیوند در آن انجام می‌شود.
- در دسترس بودن بافت یا عضو
- مشکل بودن انجام پیوند و مراقبت از بیماران پس از پیوند
- عوامل اختصاصی که به قبول پیوند مشخصی کمک‌کرده یا آن را مشکل می‌سازند

ضرورت انجام پیوند، ممکن است به نوع بافت نیز وابسته باشد. در مورد قلب ریه و کبد راههای جایگزین کمی جهت زنده نگه‌داشتن بیمار وجود دارد. با وجودی که دیالیز به صورت روتین برای نگه‌داشتن بیمار جهت انجام پیوند کلیه کاربرد دارد ولی مستلزم رژیم‌های غذایی سختی بوده و تعداد از بیماران به صورت داوطلبانه از درمان انصراف می‌دهند. تحقیق بر روی اعضا مصنوعی ادامه داشته ولی هیچ گزارشی مبنی بر موفقیت طولانی مدت در دسترس نمی‌باشد.

- کلیه شایع‌ترین عضو پیوندی می‌باشد

همان‌طور که در بالا اشاره شد، شایع‌ترین عضو پیوندی کلیه می‌باشد؛ در سال ۲۰۰۵ تعداد ۱۶۴۷۷ پیوند کلیه در ایالات متحده انجام شده است. بسیاری از بیماری‌های شایع مثل دیابت و انواع مختلف التهاب کلیه منجر به نارسایی کلیوی شده که با انجام پیوند، بهبودی می‌یابد. بر مبنای در دسترس بودن، پیوند کلیه را نه تنها از جسد، بلکه از خویشاوندان زنده و یا افراد داوطلب نیز می‌توان انجام داد، زیرا می‌توان یک کلیه را اهدا کرد و با کلیه باقیمانده به صورت طبیعی زندگی کرد. در سال ۲۰۰۵، ۶۵۶۲ پیوند از ۱۶۴۷۷ پیوندکلیه انجام شده در ایالات متحده از اهداکنندگان زنده گرفته شده است. روند

www.bbooks.ir

جراحی پیوند کلیه ساده می‌باشد؛ از نظر تکنیکی، کاشت کلیه ساده‌تر از قلب یا کبد می‌باشد. بدلیل این که تعداد زیادی پیوند کلیه بـه انجـام رسـیده، روش‌هـای مراقبـت از بیمـاران و سرکوب ایمنی نیز با دقت صورت می‌گیرند. سازگار بودن گروه خونی و سازگاری بـافتی در پیوند کلیه یک مزیت به حساب می‌آید زیـرا ایـن عضـو دارای عـروق فراوانـی بـوده ولـی مشکلات خاصی که منجر به GVHD گردد در مورد کلیه وجود ندارد.

دو مشکل عمده افرادی که در انتظار کلیه می‌باشند، یکـی کمبـود عضـو جهـت پیونـد و دیگری افزایش تعداد گیرندگان حساس شده می‌باشد. مشکل اخیر در اثـر رد پیونـد اولیـه ایجاد می‌شود که پس از آن، شخص حساس شده و پاسخ‌های آنتـی‌بـادی و مکانیسـم‌هـای سلولی علیه آنتی‌ژن‌های کلیه شکل می‌گیرند. هر پیوندی که پس از آن انجام شود که حاوی آنتی‌ژن‌های مشترک با پیوند اولیه باشد به سرعت پس‌زده می‌شود. در نتیجـه مـی‌بایسـت روش‌های تعیین بافت دقیقی مورد استفاده قرار گیرنـد تـا از عـدم حضـور آنتـی‌بـادی یـا مکانیسم‌های سلولی فعال علیه کلیه دهنده در بدن شخص گیرنـده پیونـد اطمینـان حاصـل شود. در اکثر موارد، پس از یک یا دو مورد رد پیوند، بیمار دیگر قادر به یافتن کلیه مناسب نخواهد بود. تقریباً همیشه باید بیماران پیوند کلیه‌ای به نحوی تحـت سـرکوب ایمنـی قـرار گیرند. متأسفانه این کار موجب عوارضی مثل سرطان و عفونـت و همچنـین سـایر عـوارض جانبی مانند افزایش فشار خون و بیماری متابولیک استخوان می گردد.

- پیوندهای مغز استخوان جهت درمان لوسمی، کم‌خونی و نقص ایمنی به کار می‌روند

پس از کلیه، مغز استخوان شایع‌ترین پیوند می‌باشد. از اوایل دهه ۱۹۸۰ انجام پیوند مغـز استخوان برای درمان بسیاری از بیماری‌های خوش‌خیم وبدخیم خونی مثـل لوسـمی، لنفـوم، آنمی‌آپلاستیک، تالاسمی ماژور و بیماری‌های نقص ایمنی شدید (SCID) به کارمی‌رود. مغز استخوانی که توسط سوزن از یک فرد زنده تهیه می‌شود حاوی رده‌های اریتروئید، میلوئیـد،

www.bbooks.ir

منوسیتی، مگاکاریوسیتی و لنفوئید می‌باشد. پیوند معمولاً حاوی $۱۰^{۹}$ سلول در هرکیلوگرم از وزن فرد گیرنده بوده و به صورت داخل وریدی تزریق می‌شود. اولین پیوند موفقیت‌آمیز مغز استخوان بین دوقلوهای همسان صورت گرفت. با این حال، امروزه با پیشرفت‌هایی که در زمینه روش‌های تعیین بافت حاصل شده می‌توان دهندگان آلوژنیک که آنتی‌ژن های HLA همسان یا مشابه با گیرنده دارند، شناسایی کرد. با وجودی که در تهیه منابع تأمین پیوند مغز استخوان مشکلی وجود ندارد ولی یافتن دهنده سازگار دشوار می‌باشد.

در روند معمول، قبل از انجام پیوند، گیرنده مغزاستخوان تحت سرکوب ایمنی قرار می‌گیرد. برای مثال بیماران مبتلا به لوسمی تحت سیکلوفسفامید و اشعه قرار می‌گیرند تا تمام سلول‌های سرطانی کشته شوند. سرکوب سیستم ایمنی در فرد گیرنده، روند رد پیوند را محدود می‌کند ولی بدلیل این که مغز استخوان دهنده حاوی سلول‌های صلاحیت‌دار ایمنی می‌باشد، پیوند، میزبان را پس می‌زند و منجر به **بیماری پیوند علیه میزبان (GVHD)** می‌گردد. GVHD در ۵۰ تا ۷۰ درصد بیماران دریافت کننده پیوند مغز استخوان رخ می‌دهد و در آن سلول‌های T دهنده، آلوآنتی‌ژن‌های سلول‌های گیرنده را شناسایی می‌کند. فعال‌شدن و تکثیر این سلول‌های T و در پی آن تولید سایتوکاین‌ها منجر به ایجاد پاسخ‌های التهابی در پوست، مجرای گوارش و ریه می‌گردد. درموارد شدید، GVHD به اریتروادم در کل پوست، خونریزی گوارشی و نارسایی کبدی می‌انجامد.

درمان‌های متنوعی جهت جلوگیری از GVHD در پیوند مغز استخوان به کار می‌رود. معمولاً گیرنده پیوند تحت رژیم دارویی سرکوبگر ایمنی و اغلب سایکلوسپورین A و متوتروکسات قرار می‌گیرند تا پاسخ‌های ایمنی سلول‌های ایمنی دهنده مهار شوند. در روشی دیگر، مغز استخوان‌دهنده قبل از انجام پیوند با آنتی‌سرم ضد T یا آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد سلول T مجاور می‌شوند که این کار موجب تخلیه سلول‌ها Tمهاجم از بافت پیوندی می‌گردد. تخلیه کامل مغز استخوان دهنده از سلول‌های T، احتمال پس‌زدن پیوند را افزایش می‌دهد و در نتیجه روند معلول که اکنون مورد استفاده قرار می گیرد، تخلیه نسبی

www.bbooks.ir

سلول‌های T می‌باشد. مشخص می‌باشد که فعالیت اندک سلول‌های T دهنده، موجب GVHD ضعیف گردیده که قطعاً سودمند می‌باشد زیرا سلول‌های دهنده هر کدام از سلول‌های T گیرنده را که پس از درمان سرکوب ایمنی زنده مانده باشند را از بین می‌برند و این از حساس‌شدن مجدد سلول‌های میزبان و در نتیجه رد پیوند جلوگیری می‌کند. در بیماران مبتلا به لوسمی سطوح پایین GVHD به نظر می‌رسد که در تخریب سلول‌های سرطانی میزبان شرکت داشته و از عود مجدد لوسمی جلوگیری می‌کند.

- پیوند قلب

شاید پیوند قلب هیجان‌انگیزترین شکل پیوند باشد. با خارج کردن قلب آسیب‌دیده، تا زمانی که قلب پیوند جایگزین گردد و شروع به تپش کند. بیمار می‌بایست با وسایل کاملاً مصنوعی زنده نگه‌داشته شود. پس از خارج کردن قلب، از ماشین‌های قلبی-ریوی جهت گردش و هوادهی خون بیمار استفاده می‌شود. قلب دهنده می‌بایست در شرایطی نگهداری شود تا پس از جایگیری در بدن گیرنده شروع به تپیدن کند. مشخص شده که قلب انسان را می‌توان برای مدتی محدود در محلول‌های بافری با درجه حرارت یخ زنده نگه‌داشت. چندسالی است که روش‌های جراحی کاشت قلب به کار می‌روند. اولین پیوند قلب در سال ۱۹۶۴ توسط دکتر کریستین برنارد در آفریقای جنوبی انجام شد. از آن زمان، بقای یک‌ساله پس از پیوند قلب به بیش از ۸۰٪ رسیده است. در سال ۲۰۰۵، تعداد ۲۱۲۷ مورد پیوند قلب در ایالات متحده صورت گرفت و حدود ۳۰۰۰ نفر نیز در لیست انتظار قرار داشتند.

اگر چه پیوند قلب برای افراد مبتلا به بیماری‌های مختلف قلبی سودمند می‌باشد، ولی تعداد قلب‌های مناسب محدود است قربانیان تصادفات که دچار مرگ مغزی شده ولی قلب و گردش خون سالمی دارند، منابع طبیعی این عضو می‌باشند. سازگار بودن HLA مطلوب می‌باشد ولی اغلب منابع محدود قلب و اورژانسی بودن عمل جراحی، دست یافتنی نمی‌باشد.

www.bbooks.ir

- پیوند ریه در حال افزایش می‌باشد

در سال‌های اخیر پیوند ریه به تنهایی یا همراه با پیوند قلب جهت درمان فیبروز سیستیک و آمفیزم یا آسیب‌های حاد ریوی که در اثر تنفس دود ایجاد می‌شوند، به کـار مـی‌رود. در سال ۲۰۰۵، ۱۴۰۸ پیوند ریه و ۳۳ پیوند قلب- ریه به انجام رسیده است. میزان بقای یـک ساله پیوند ریه حدود ۶۰٪ گزارش شده است.

- پیوند کبد، نقایص مادرزادی و آسیب‌های ناشی از ویروس یا مواد شیمیایی را درمان می‌کند

کبد عضو بزرگی است که نقـش زیـادی را در پاکسـازی و سـم‌زدایـی مـواد شـیمیایی و بیولوژیک بازی می‌کند. آسیب کبد در اثر بیماری‌های ویروسی مثل هپاتیت یـا برخـورد بـا مواد شیمیایی مضر مانند الکلیسم مزمن منجر به نارسایی کبدی می‌گردند. در صـورتی کـه ماده آسیب‌رسان از بین برود ممکن است بازسازی بافت آسیب‌دیـده موجـب بهبـود کبـد آسیب‌دیده شود. در صورتی که بافت کبد بازسازی نشود، آسیب می‌تواند کشنده باشد. اکثر پیوندهای کبد، جهت درمان ناهنجاری‌های مادرزادی کبد صورت می‌گیرند. بـدلیل بـزرگ بودن و پیچیدگی جریان خون در کبد، کاشت مجدد کبد در ابتدا با مشکلات تکنیکی زیادی روبرو بود. جهت مقابله با این چالش، پیشرفت‌هایی در زمینه تکنیک جراحی حاصل شـده و میزان بقای یک ساله پیوند امروزه تا ۶۵٪ افزایش یافته است. در سـال ۲۰۰۵، ۶۴۴۴ کبـد در ایالات متحده پیوند زده شده است. نکته جالب توجه این است که کبد یک فرد دهنده را می‌توان به دو قسمت تقسیم کرده و به دو فرد مجزا پیوند زد. در حالت طبیعی یک کودک به بخش کوچکی از کبد نیاز داشته و بخش بزرگتر را به یک فرد بالغ پیوند می‌زنند. از سال ۱۹۹۸، تعداد اهداکنندگان زنده‌ای که بخشی از کبد خود را به یک بیمار نیازمنـد (معمـولاً خویشاندان نزدیک) اهدا می‌کنند از کمتر از ۱۰۰ مورد تا چند صد مورد در سـال افـزایش یافته است.

www.bbooks.ir

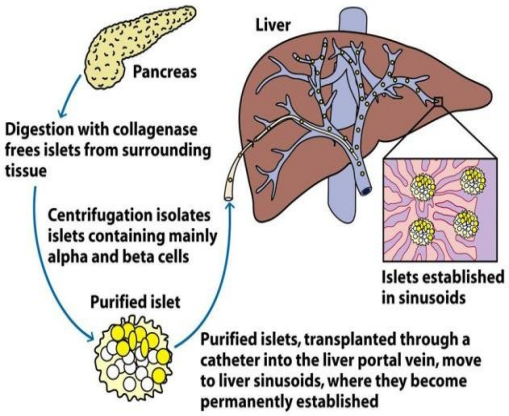
ایمونولوژی پیوند کبد بدلیل این که این عضو در برابر ردپیوند فوق حاد ممانعت می‌کند، جالب می‌باشد، نشان داده شده که پیوند بین گروه‌های خونی مختلف که انتظار می‌رود رد پیوند فوق حاد را در پی داشته باشد، در کوتاه مدت موفقیت‌آمیز می‌باشد. با این حال، در صورتی که بین دهنده و گیرنده ناسازگاری گروه خونی وجود داشته باشد، لکوسیت‌های موجود در کبد دهنده همراه با آنتی‌بادی‌های ضد گروه خونی می‌توانند به همولیزگلبول‌های قرمز گیرنده منجر شوند. علاوه بر آن، حتی در صورت سازگار بودن دهنده و گیرنده از نظر گروه‌های خونی، آثار GVHD در پیوند کبد به چشم می‌خورد که به وضوح توسط لنفوسیت‌های دهنده که در کبد پیوند شده حضور دارند، ایجاد می‌شود.

- پیوند سلول‌های پانکراس به عنوان درمان دیابت ملیتوس

دیابت ملیتوس یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در ایالات متحده می‌باشد. این بیماری به دلیل نقص عملکرد سلول‌های جزایرپانکراس در تولید انسولین ایجاد می‌شود. پیوند سلول‌های پانکراس می‌تواند سطح مناسبی از انسولین مورد نیاز را برای فرد دیابتی تأمین کند. پیوند کل پانکراس جهت بازگرداندن عملکرد تولید انسولین ضروری نمی‌باشد و پیوند سلول‌های جزیره‌ای به تنهایی می‌تواند موجب بازگرداندن این عملکرد گردد.

اخیراً در چند مرکز تحقیقاتی، مطالعاتی جهت جداسازی و پیوند سلول‌های جزایرپانکراس به منظور درمان دیابت وابسته به انسولین صورت گرفته است.

www.bbooks.ir



شکل ۱۲-۱۷: روش های مورد استفاده جهت برداشت و پیوند سلول های جزایر پانکراس. پانکراس با کلاژناز هضم شده و جزایر آن از سلول های پیرامونی آزاد می شوند. این جزایر با سانتریفوژ و بواسطه شیب غلظت تخلیص شده و و به ورید باب کبد تزریق می شوند.

روش کلی در شکل ۱۲-۱۷ نشان داده شده است که سلول‌های جزیره‌ای برداشت شده و داخل کبد قرار می‌گیرند. دراین مکان به صورت موقت در سینوزوئیدهای کبدی پایدار می‌شوند. نتایج اولیه نشان می‌دهند که ۵۳٪ بیماران پس از انجام پیوند دیگر به انسولین وابسته نخواهند بود. حدود ۱۷٪ بیماران از مطالعه حذف شدند و بقیه بیماران هنوز به مقداری انسولین خارجی نیاز داشتند که این بیماران کاندیدای پیوندهای بعدی می‌باشند. عملکرد و بقای سلول‌های پانکراس به چندین عامل وابسته است که مهمترین آنها شرایط سلول‌های جزیره‌ای برای پیوند می‌باشد.

نارسایی کلیه از عوارض شایع دیابت پیشرفته بوده که در ۳۰٪ افراد دیابتی به چشم می‌خورد و در این مواد لزوم انجام همزمان پیوند کلیه و پانکرانس وجود دارد. در سال ۲۰۰۵ تعداد ۵۴۰ پیوند پانکراس و ۹۰۳ پیوند کلیه- پانکراس به انجام رسیده است. با وجودی که بهتر است تصمیم‌گیری جهت انجام پیوند همزمان کلیه – پانکراس یاهر کدام به تنهایی، به صورت مورد به مورد انجام شود ولی ارزش انجام پیوند کلیه در افراد دیابتی در

www.bbooks.ir

این واقعیت که بقای افراد دیابتی نوع I که دیالیز می شوند ۳/۵ سال و زنده ماندن گیرندگان پیوند کلیه ۸ سال می‌باشد، منعکس می گردد.

- پیوند پوست برای درمان قربانیان سوختگی

اکثر پیوندهای پوست در انسان بوسیله پوست خود فرد انجام می‌شود. هر چند که در موارد سوختگی شدید، ممکن است از پوست بیگانه که در بانک‌های بافتی نگهداری می‌شود، استفاده شود. این پیوندها عموماً به عنوان یک لباس یا پوشاننده بیولوژیک عمل می‌کنند زیرا عناصر سلولی آنها دیگر زنده نبوده و پیوند در میزبان جدید دیگر رشد نمی‌کند. این پیوندها برای مدت چند روز در محل خود قرار می‌گیرند و بعد دوباره تعویض می‌شوند. در برخی موارد پیوند پوست آلوژنیک با استفاده از پوست زنده تازه به انجام رسیده است ولی می‌بایست با استفاده از درمان‌های سرکوب ایمنی از رد پیوند جلوگیری شود. این حالت، مطلوب نمی‌باشد زیرا قربانیان سوختگی در معرض خطر بالای عفونت بوده و سرکوب ایمنی این خطر را تشدید می‌کند.

لیست فوق پیوندهای شایع را در بر داشته که به هیچ وجه تمامی موارد را در بر نمی‌گیرد و انتظار می‌رود که در آینده گسترش یابد. برای مثال پیوندهای سلول عصبی داخل مغزی موجب بازگرداندن عملکردهای مغزی قربانیان بیماری پارکینسون گردیده است. در مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته، منبع سلول‌های عصبی، جنین انسان بوده است و احتمال استفاده از سایر گونه‌های حیوانی تحت بررسی می‌باشد. از سلول‌های بند ناف جهت درمان بیماران مبتلا به لوسمی استفاده می‌شود و مخازن نگهداری خون بندناف در حال افزایش می‌باشد. مزیت‌های این روش شامل آسان‌تر شدن معیارهای سازگاری همراه با سهولت دریافت از مخازن بافت می‌باشد. یک مشکل برای افراد بالغ در این روش تعداد نسبتاً کم سلول‌های پیش‌ساز خونی در بندناف می‌باشد.

www.bbooks.ir

- پیوند از حیوانات می‌تواند پاسخی به کمبود اعضای انسانی باشد

با وجودی که سیستم ایمنی سد محکمی در برابر استفاده از پیوند می‌باشد، پیشرفت‌های قابل توجهی جهت مقابله با این مشکل حاصل شده است. با این وجود، پیشرفت خاصی جهت حل مشکل یافتن اعضا برای افراد نیازمند صورت نگرفته است. تأمین ناکافی اعضا بدین معنا است که بیماران هنگامی که در لیست انتظار قرار دارند، فوت می‌کنند. در بیمارانی که در انتظار دریافت کلیه هستند میزان مرگ و میر ۶٪ و این عدد در مورد پیوند قلب ۱۴٪ می‌باشد. نیاز به تأمین جایگزین برای اعضا، توجه را به سمت پیوند از حیوانات معطوف کرده است. پریمات‌های بزرگ غیر انسان (شامپانزه‌ها و بابون‌ها) به عنوان دهندگان اصلی در نظر گرفته شده‌اند و خوک‌های تغییر یافته نیز می‌توانند به عنوان منبع عضو جهت استفاده در انسان قلمداد شوند.

اولین پیوندهای کلیه از شامپانزده به انسان در سال ۱۹۶۴ انجام شدند. از آن زمان تلاش‌هایی جهت انجام پیوندهای کلیه، قلب، کبد و مغز استخوان از پریمات‌ها به انسان صورت پذیرفته است. هیچ یک از این تلاش‌ها به موفقیت نینجامیده است ولی برخی از آنها مورد توجه قرار گرفته‌اند. در سال ۱۹۹۳ استارزل[1] دو پیوند کبد را از بابون به انسان‌هایی که دچار نارسایی کبدی بودند، انجام داد. هر دو بیمار، یکی پس از ۲۶ روز و دیگری بعد از ۷۰ روز فوت کردند. در سال ۱۹۹۴ یک کبد خوکی به بیمار ۲۶ ساله‌ای که دچار نارسایی کبدی بود، پیوند زده شد و تنها ۳۰ ساعت قبل از رد فوق حاد پیوند، دارای عملکرد بود. در سال ۱۹۹۵ مغز استخوان یک بابون به مردی که به عفونت HIV مبتلا بود، تزریق گردید تا سیستم ایمنی تضعیف شده وی تقویت گردد. در حالی که هیچ مشکلی در رابطه با انجام پیوند مشاهده نگردید ولی مغز استخوان بابون نتوانست در گیرنده جایگزین شود.

مشکل اصلی پیوند از حیوانات این است که رد پیوند در اغلب موارد نسبتاً شدید بوده و حتی در مواردی که گیرنده با داروهای سرکوبگر ایمنی قوی مثل FK506 یا راپامایسین

1- T. W. Starzl

www.bbooks.ir

درمان شده باشد، شاهد چنین واکنش‌های رد پیوند قدرتمندی می‌باشیم. پاسخ‌های اصلی شامل پاسخ آنتی‌بادی و کمپلمان بوده که منجر به رد فوق حاد می‌گردد. علاوه بر مشکل رد پیوند، احتمال گسترش پاتوژن‌ها از دهنده به گیرنده نیز وجود دارد. این پاتوژن‌ها می‌توانند منجر به بیماری‌های زنوزئونوز گردند که برای انسانها کشنده می‌باشند. برای مثال، ویروس‌های مشخص که خویشاوندان نزدیک HIV-1 هستند در شامپانزده‌ها به چشم می‌خورند یا HIV-2 و هرپس ویروس B که در بسیاری از پریمات‌ها وجود دارند، پاتوژنز محدودی در میزبان‌های پریمات خویش دارند ولی منجر به عفونت‌های کشنده‌ای در انسان می‌گردند. علاوه بر آن، این ترس وجود دارد که رتروویروس‌های پریمات‌ها (فصل ۲۰) مثل SIV، با واریانت‌های انسانی ترکیب شوند و عوامل بیماری‌زای جدیدی را ایجاد کنند. احتمال ایجاد ویروس‌های جدید در اثر پیوند از گونه‌های نزدیک مانند پریمات‌ها بیشتر بوده و این احتمال در پیوند از گونه‌های دورتر مثل خوک کمتر می‌باشد زیرا احتمال تکثیر ویروس‌ها در گونه‌های دورتر کمتر می‌باشد.

- خلاصه

- رد پیوند یک پاسخ ایمونولوژیک بوده که خصوصیاتی مثل ویژگی ، خاطره و شناخت خودی از غیر خودی را نشان می‌دهد. سه نوع اصلی رد پیوندوجود دارد:
- رد فوق حاد که در اثر آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده میزبان علیه آنتی‌ژن‌های پیوند ایجاد می‌شود.
- رد حاد که در آن سلول‌های T_H و/یا CTL منجر به آسیب بافتی می‌گردد.
- رد مزمن که شامل هر دو پاسخ ایمنی هومورال و سلولی می‌باشد.
- پاسخ ایمنی به آنتی‌ژن‌های بافتی که در مجموعه سازگاری بافتی کد می‌شوند، قدرتمندترین نیروی رد پیوند می‌باشد.

www.bbooks.ir

- تطابق بین دهنده و گیرنده پیوند توسط تعیین گروه خونی و آنتی‌ژن‌های MHC کلاس I و II انجام می‌شود.
- روند پس‌زدن پیوند را می‌توان به دو بخش تقسیم کرد: مرحله حساس سازی که سلول‌های T تحریک می‌شوند و مرحله اجرایی که در آن سلول‌های T به بافت آسیب می‌رسانند.
- در بیشتر شرایط بالینی، رد پیوند توسط مواد سرکوبگر ایمنی غیر اختصاصی یا پرتو افشانی x تمامی اعضای لنفاوی مهار می‌شود.
- آزمایشات تجربی با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال، امکان سرکوب اختصاصی ایمنی را فراهم می‌کنند. این آنتی‌بادی‌ها عمل خود را از طریق:
  - حذف جمعیت‌های سلول‌های واکنشگر یا
  - مهار پیام‌های کمک تحریکی که منجر به بی‌پاسخی سلول‌های واکنشگر می‌گردند، انجام می‌دهند.
- جایگاههای مشخصی در بدن مثل قرنبه چشم، مغز، بیضه و رحم علیرغم ناسازگاری دهنده و گیرنده، پیوند را رد نمی‌کنند.
- القای تحمل اختصاصی به آلو آنتی‌ژن‌ها در اثر مواجهه با آنها یا در رحم و یا تزریق به نوزادان انجام می‌شود.
- مشکل اصلی در پیوند مغز استخوان، واکنش پیوند علیه میزبان توسط لنفوسیت‌های موجود در مغز استخوان دهنده می‌باشد.
- بحران کمبود اعضای موجود جهت پیوند ممکن است در آینده با بکارگیری اعضای گونه‌های غیرانسانی مرتفع گردد.

www.bbooks.ir

- سئوالات درسی

۱- درست یا نادرست بودن هر کدام از موارد زیر را نشان دهید. در صورتی که تصور می‌کنید موردی نادرست می‌باشد، دلیل خود را بیان کنید.

الف) رد حاد در اثر آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده علیه آنتی‌ژن‌های بافت پیوندی ایجاد می‌شود.

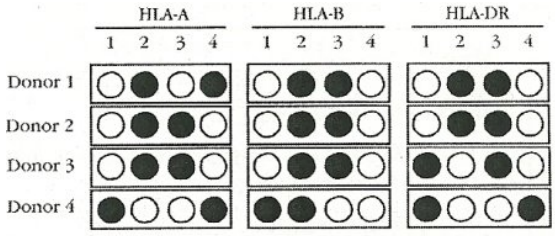
ب) رد پیوند مرحله دوم نشان دهنده خاطره ایمنی می‌باشد.

پ) سلول‌های دندریتیک میزبان به داخل بافت پیوندی مهاجرت کرده و به عنوان سلول عرضه کننده آنتی‌ژن عمل می‌کند.

ت) تمامی آلوگرافت‌هایی به بین اشخاص با HLA یکسان انجام می‌گیرند، پذیرفته می‌شوند.

ث)سایتوکاین‌های تولید شده توسط سلول‌های T_H میزبان که در پاسخ به آلوآنتی‌ژن‌ها فعال شده‌اند، نقش اصلی را در رد پیوند بازی می‌کنند.

۲- شما یک جراح در مرکز جراحی پیوند می‌باشید. یکی از بیماران شما در انتظار پیوند کلیه می‌باشد و در اثر یک سانحه رانندگی تعداد زیادی عضو از اجساد این حادثه در اختیار شما قرار گرفته است. تکنسین شما بر روی دهندگان مختلف آزمون میکروسیتوتوکسیسیتی را انجام می‌دهد و نتایج زیر بدست می‌آید. بیمار شما نیز قبلاً آزمایش شده و در مورد آنتی‌بادی‌های بکار رفته در چاهک‌های ۲ و ۳ مثبت و در مورد چاهک‌های ۱ و ۴ منفی می‌باشد.



www.bbooks.ir

الف) اولین انتخاب شما کدام دهنده می‌باشد؟

ب) در صورتی که عضو، قابل استفاده نباشد، کدام یک از اعضای باقیمانده را به کار می‌برید؟

پ) اساس علمی انتخاب شما چیست؟

ت) جهت تأیید سازگار بودن دهنده و گیرنده، تکنسین شما چه آزمونی را انجام می‌دهد؟

۳- نشان دهید که کدامیک از پیوندهای پوست ذکر شده در جدول زیر رد (R) یا پذیرفته (A) می‌شود. در صورتی که تصور می‌کنید که رد پیوند رخ می‌دهد، مشخص کنید که رد پیوند مرحله اول (FSR) بوده و طی ۱۲ تا ۱۴ روز رخ می‌دهد یا رد پیوند مرحله دوم (SSR) بوده که طی ۵ تا ۶ روز اتفاق می‌افتد. تمامی موش‌های ذکر شده دارای هاپلوتایپ‌های متفاوت H2 می‌باشند.

Donor	Recipient
BALB/c	C3H
BALB/c	Rat
BALB/c	Nude mouse
BALB/c	C3H, had previous BALB/c graft
BALB/c	C3H, had previous C57BL/6 graft
BALB/c	BALB/c
BALB/c	(BALB/c × C3H)F_1
BALB/c	(C3H × C57BL/6)F_1
(BALB/c × C3H)F_1	BALB/c
(BALB/c × C3H)F_1	BALB/c, had previous F_1 graft

۴- بیماری پیوند علیه میزبان (GVHD) معمولاً پس از انواع خاصی از پیوند ایجاد می‌شود.

الف) به طور خلاصه مکانیسم‌های دخیل در GVHD را شرح دهید.

ب) تحت چه شرایطی احتمال GVHD وجود دارد؟

ت) برخی محققان معتقدند که مواجهه قبلی بافت پیوندی با آنتی‌بادی منوکلونال و کمپلمان یا ترکیب آنتی‌بادی منوکلونال با برخی سموم موجب کاستن از شدت

www.bbooks.ir

GVHD می‌گردد. حداقل دو آنتی‌ژن سطحی که آنتی‌بادی منوکلونال علیه آن ساخته شود را نام ببرید و منطق خود را نیز برای این انتخاب بیان کنید.

۵- کودکی که به پیوند کلیه نیازمند است با چند پیشنهاد پیوند از جانب هر دو والدین و ۵ خواهر و برادر خود روبرو است.

For use with Question 5a:

	ABO type	HLA-A type	HLA-B type	HLA-C type
Recipient	O	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Potential donors				
Mother	A	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw1/Cw3*
Father	O	*A2*	*B12/B15*	*Cw3*
Sibling A	O	*A1/A2*	*B8/B15*	*Cw3*
Sibling B	O	*A2*	*B12*	*Cw1/Cw3*
Sibling C	O	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Sibling D	A	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Sibling E	O	*A1/A2*	*B8/B15*	*Cw3*

For use with Question 5b:

Respondent cells	Mytomycin C-treated stimulator cells					
	Patient	Sibling A	Sibling B	Sibling C	Sibling D	Sibling E
Patient	1,672 (1.0)	1,800 (1.1)	13,479 (8.1)	5,210 (3.1)	13,927 (8.3)	13,808 (8.3)
Sibling A	1,495 (1.6)	933 (1.0)	11,606 (12.4)	8,443 (9.1)	11,708 (12.6)	13,430 (14.4)
Sibling B	25,418 (9.9)	26,209 (10.2)	2,570 (1.0)	13,170 (5.1)	19,722 (7.7)	4,510 (1.8)
Sibling C	10,722 (6.2)	10,714 (5.9)	13,032 (7.5)	1,731 (1.0)	1,740 (1.0)	14,365 (8.3)
Sibling D	15,988 (5.1)	13,492 (4.2)	18,519 (5.9)	3,300 (1.1)	3,151 (1.0)	18,334 (5.9)
Sibling E	5,777 (6.5)	8,053 (9.1)	2,024 (2.3)	6,895 (7.8)	10,720 (12.1)	888 (1.0)

الف) در آزمون میکروسیتوتوکسیسیتی، سلول‌های دهندگان را با آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد HLA-A، B و C مجاور کرده‌ایم. علاوه بر آن تعیین گروههای خونی ABO نیز صورت گرفته است. بنا بر نتایج بدست آمده در جدول زیر، پیوند کلیه از کدامیک از دهنده (ها) به احتمال بیشتری بقا خواهد داشت؟

ب) اکنون با استفاده از ترکیب‌های مختلف لنفوسیت‌های مجاور شده با میتومایسین ، آزمون MLR یک طرفه صورت گرفته است و نتایج بر مبنای شمارش تیمیدین

www.bbooks.ir

[^{3}H] بر دقیقه بیان شده است. اندیکس تحریک (نسبت مقدار تجربی به کنترل مخلوط لکوسیت‌های یکسان) در داخل پرانتز آورده شده است. بر مبنای این داده‌ها پیوند از کدام دهنده(ها) بیشترین شانس پذیرش را خواهد داشت؟

۶- پایه بیولوژیک تلاشهایی که در زمینه استفاده از CTLA-4 محلول یا ضد CTLA-4L جهت مقابله با رد پیوند صورت می‌گیرد چیست؟ چرا این روش از درمان گیرنده پیوند با CsA یا FK506 بهتر می‌باشد؟

۷- معمولاً بلافاصله پس از پیوند، به بیمار دوزهای بسیار قوی از داروهای ضد رد پیوند داده شده و سپس به آن زمان داده می‌شود تا عمل کند. اثرات داروهای معمول ضد پس‌زدن پیوند مثل آزاتیوپرین، سایکلوسپورینA، FK506 و راپامایسین را شرح دهید. چرا این امکان وجود دارد که میزان استفاده از برخی از این داروها بعضی مواقع پس از پیوند کاهش پیدا کند؟

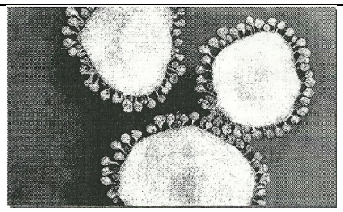
www.bbooks.ir

فصل هجدهم

پاسخ ایمنی به بیماری‌های عفونی

- عفونت‌های ویروسی
- عفونت‌های باکتریایی
- بیماری‌های انگلی
- بیماری‌های قارچی
- بیماری‌های عفونی نوظهور

www.bbooks.ir

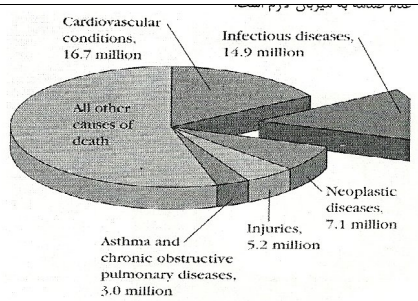


یک جنبه مهم ایمنی ذاتی، وجود فلور طبیعی در دستگاه گوارشی، ادراری – تناسلی و تنفسی می‌باشد. این فلور که ارگانیسم‌های هم‌زیست نیز نامیده می‌شوند به طور رقابتی اتصال پاتوژن‌ها به سلول‌های میزبان را مهارمی‌کنند. پاسخ های ذاتی همچنین می‌توانند ایجاد عفونت را مهار کنند. برخی از باکتری‌ها **اندوتوکسین** (مثل LPS) تولید می‌کنند که ساخت سایتوکاین‌هایی مانند TNF، IL-1 و IL-6 را بواسطه ماکروفاژها یا سلول‌های اپی‌تلیال تحریک می‌کنند. این سایتوکاین‌ها می‌توانند ماکروفاژها را فعال کنند.

عموماً پاتوژن‌ها راه‌کارهای مختلفی را جهت فرار از تخریب توسط سیستم ایمنی اختصاصی به کار می‌گیرند. بسیاری از پاتوژن‌ها به واسطه رشد در سلول‌های میزبان، در زمان حمله ایمنی در امان بوده و یا با ریزش آنتی‌ژن‌های غشایی خود، آنتی‌ژنیسیته خود را کاهش می‌دهند. پاتوژن‌های دیگر با تقلید از سطوح سلول‌های میزبان خود را از دید سیستم ایمنی پنهان می‌سازند. بسیاری از پاتوژن‌ها قادرند پاسخ ایمنی را به طور انتخابی سرکوب ساخته و یا آن را سرکوب کنند به گونه‌ای که بازویی از سیستم ایمنی فعال می‌شود که بر ضد پاتوژن مؤثر نمی‌باشد. تغییر پذیری مکرر در آنتی‌ژن‌های سطحی از دیگر راه‌کارهایی است که یک پاتوژن را قادر می‌سازد تا از سیستم ایمنی فرار کند.

استفاده گسترده از واکسن‌ها و درمان‌های دارویی به طور قابل توجهی مرگ‌و میر ناشی از بیماریهای عفونی را در کشورهای توسعه یافته کاهش داده است، اما این بیماری‌ها در کشورهای جهان سوم هنوز منجر به مرگ می‌شوند. تخمین زده می‌شود هر ساله در دنیا ۱۵ میلیون نفر در نتیجه بیماری‌های عفونی جان خود را از دست می‌دهند(شکل ۱-۱۸)

www.bbooks.ir



Infectious diseases	Annual deaths
Respiratory infections	3.96
HIV/AIDS	2.77
Diarrheal diseases	1.80
Tuberculosis	1.56
Vaccine-preventable childhood diseases	1.12
Malaria	1.27
STDs (other than HIV)	0.18
Meningitis	0.17
Hepatitis B and C	0.16
Tropical parasitic diseases	0.13
Dengue	0.02
Other infectious diseases	1.76

شکل ۱-۱۸: بیماری های عفونی از جمله عوامل مرگ و میر در جهان می باشند. ۱۴/۹ میلیون مورد مرگ و میر به عفونت های مندرج در جدول اختصاص دارد.

را در کشورهای توسعه یافته کاهش داده است، اما این بیماری‌ها در کشورهای جهان سوم هنوز منجر به مرگ می‌شوند. تخمین زده می‌شود هر ساله در دنیا ۱۵ میلیون نفر در نتیجه بیماری‌های عفونی جان خود را از دست می‌دهند (شکل ۱-۱۸). در مقایسه با آن، حدود ۷/۱ میلیون نفر در نتیجه بیماری‌های مربوط به سرطان و حدود ۱۶/۷ میلیون نفر در نتیجه نقص عملکردهای قلبی – عروقی جان خود را از دست می‌دهند.

در این بخش، مفهوم ایمنی در سرتاسر متن، تنها برای بیماری‌های عفونی که عامل آنها ویروس‌ها، باکتری‌ها، انگل‌ها و قارچ‌ها می‌باشند، توضیح داده شده است. این که در یک فصل بتوان تمام بیماری‌های شناخته شده را پوشش داد، غیر ممکن است. بنابراین، ما در این مبحث بیماری‌های متداولی که شمار بسیاری از افراد را مبتلا می‌سازند را انتخاب کرده و مثال‌هایی از مفاهیم کلی آنها را می‌آوریم و نیز در مورد برخی از بیماری‌هایی که به تازگی درمان شده‌اند، صحبت خواهیم کرد.

www.bbooks.ir

- عفونت‌های ویروسی

ویروس‌ها کوچک‌ترین قطعات اسیدنوکلئیک به همراه پوشش پروتئینی یا لیپوپروتئینی می‌باشند. آنها به منابع میزبان جهت تکثیر خود نیاز دارند. در بسیاری از موارد، فرآیند تکثیر ژنومی، مستعد اشتباه می‌باشد و جهش‌های متعددی به وجود می‌آید. از آنجایی که در یک چرخه تکثیر، شمار بسیاری از ویروس‌های جدید به وجود می‌آیند، این جهش یافته‌ها توانایی تکثیر خودشان را حفظ می‌کنند. از نقطه نظر بقا، ویروس قبل از آن که موجب کشتار سلول شود، سبب حفظ بقای سلول می‌گردد، بدین معنی که تداوم همزیستی برای بقای دائمی ویروس لازم است. با این وجود، قابلیت جهش‌زایی ژنوم ویروس گاهی موجب ایجاد جهش‌یافته‌های کشنده‌ای می‌شود که این وضعیت متعادل با میزبان خود را حفظ نمی‌کنند. اگر چنین جهش‌یافته‌هایی موجب مرگ میزبان خود می‌شوند، لازمه بقای ویروس، انتقال آن به میزبان جدید می‌باشد. راه‌کارهای کلی موجود برای بقای ویروس قبل از این که بیماری شدید یا مرگ رخ دهد، یک دوره نهفتگی طولانی مدت می‌باشد که در طول این دوره ممکن است میزبان، ویروس را به دیگران انتقال دهد.

HIV چنین راه‌کاری را به کار می‌گیرد. راه‌کار دیگر، انتقال ساده ویروس می‌باشد که در آن، عفونت حتی در طول یک بیماری حاد کوتاه مدت نیز می‌تواند به طور مؤثری منتقل شود. ویروس‌های آنفولانزا و آبله از این راه‌کار استفاده می‌کنند. چرخه زندگی پاتوژنی ویروس‌ها برای انسان، ممکن است میزبان‌های غیرانسانی را هم در بر بگیرد. به عنوان مثال، ویروس نیل غربی (WNV) در گونه‌های خاصی از پرندگان به خوبی تکثیر یافته و توسط پشه‌ها از پرنده‌ای آلوده به **میزبان‌های نهایی مرگ**[1] مثل انسان و اسب منتقل می‌شود. انتقال WNV بین انسان‌ها از طریق پشه کارآمد نمی‌باشد، زیرا تیتر ویروس در خون انسان پایین بوده و میزان خون منتقل شده توسط نیش پشه اندک می‌باشد و ویروس‌های کافی

1-dead-end hosts

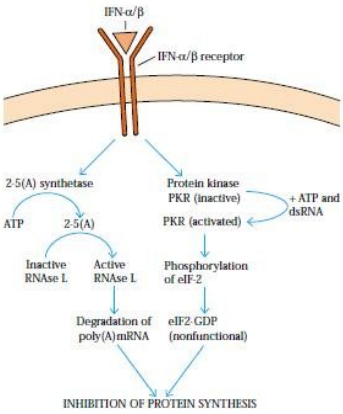
www.bbooks.ir

جهت بیماری‌زایی در آن وجود ندارد. به هرحال، WNV از طریق انتقال خون از انسان به انسان منتقل شده و ممکن است از طریق مادران باردار آلوده، به نوزاد انتقال یابد. چندین سازوکار اجرایی از ایمنی اختصاصی به همراه سازوکارهای دفاعی غیر اختصاصی، جهت پیشگیری یا حذف عفونت ویروسی فراخوانده می‌شوند. (جدول ۱-۱۸)

TABLE 18-1 Mechanisms of humoral and cell-mediated immune responses to viruses

Response type	Effector molecule or cell	Activity
Humoral	Antibody (especially secretory IgA)	Blocks binding of virus to host cells, thus preventing infection or reinfection
	IgG, IgM, and IgA antibody	Blocks fusion of viral envelope with host cell's plasma membrane
	IgG and IgM antibody	Enhances phagocytosis of viral particles (opsonization)
	IgM antibody	Agglutinates viral particles
	Complement activated by IgG or IgM antibody	Mediates opsonization by C3b and lysis of enveloped viral particles by membrane-attack complex
Cell mediated	IFN-γ secreted by T_H or T_C cells	Has direct antiviral activity
	Cytotoxic T lymphocytes (CTLs)	Kill virus-infected self cells
	NK cells and macrophages	Kill virus-infected cells by antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)

پاسخ ایمنی ذاتی به عفونت ویروسی در وهله اول شامل تولید IFN-α و IFN-β و فعال شدن سلول‌های NK می‌باشد. مولکول‌های RNA دو رشته‌ای که در طول چرخه زندگی ویروس تولید می‌شوند، توسط TLRها مورد شناسایی قرار گرفته که موجب بیان IFN-α و IFN-β توسط سلول‌های آلوده می‌شوند. (شکل ۲-۱۸).



شکل ۲-۱۸: القای فعالیت ضد ویروسی توسط IFN-α,β. این اینترفرون ها به پذیرنده متصل شده و تولید '۲-'۵-اولیگوآدنیلات سنتتاز و پروتئین کیناز وابسته به RNA دو رشته ای را القا می کند. فعالیت آنزیم اول موجب فعال شدن RNAseL می شود که mRNA را تجزیه می کند.

www.bbooks.ir

- بسیاری از ویروس‌ها با آنتی‌بادی خنثی می‌شوند

آنتی‌بادی‌های ویژه آنتی‌ژن‌های سطح ویروس، اغلب در پیشگیری از گسترش ویروس در طول یک عفونت حاد و پیشگیری علیه عفونت‌های مجدد، حیاتی می‌باشند. آنتی‌بادی‌ها در صورت تجمع در جایگاه ورود ویروس به بدن، به طور ویژه‌ای در پیشگیری علیه عفونت مؤثرند. بسیاری از ویروس‌ها پذیرنده‌های سطحی را عرضه می‌کنند که آنها را قادر می‌سازد تا با اتصال به مولکول‌های اختصاصی غشای سلول میزبان عفونت را آغاز کنند.

به عنوان مثال، ویروس آنفولانزا به سیالیک اسید موجود در گلیکولیپیدها و گلیکوپروتئین‌های غشای سلول متصل می‌شوند. رینوویروس به مولکول‌های چسبان بین سلولی (ICAMs) و EBV به CR2 روی سلول‌های B اتصال می‌یابد. در صورتی که علیه پذیرنده ویروسی آنتی‌بادی تولید شود، می‌تواند با جلوگیری از اتصال ذرات ویروسی به سلول‌های میزبان، مانع عفونت شود. IgA ترشحی در مخاط با مهار اتصال ویروس به سلول‌های اپی‌تلیال مخاطی نقش مهمی در دفاع میزبان علیه ویروس‌ها دارد.

خنثی‌سازی ویروس با آنتی‌بادی گاهی شامل مکانیسم‌هایی است که پس از اتصال ویروس به سلول میزبان عمل می‌کنند. برای مثال، آنتی‌بادی‌ها می‌توانند با اتصال به پپتیدهایی که جهت الحاق پوشش ویروسی با غشای پلاسمایی لازمند، مانع نفوذ ویروس شوند. در صورتی که آنتی‌بادی تولید شده یک ایزوتایپ فعال کننده کمپلمان باشد، ممکن است موجب لیز ویریون‌های پوشش‌دار گردد.

ایمنی سلولی در کنترل و پاکسازی ویروس مهم می‌باشد

اگر چه آنتی‌بادی‌ها نقش مهمی در جلوگیری از گسترش یک ویروس در فاز حاد عفونت دارند، ولی در صورتی که ویروس قارد به ورود به مرحله نهفته باشد، نمی‌توان ویروس را از بین برد. در چنین شرایطی مکانیسم‌های ایمنی سلولی در دفاع میزبان اهمیت بیشتری پیدا می‌کنند. عموماً سلول‌های $CD4^{+}T$ و سلول‌های $CD8^{+}T$ اصلی‌ترین اجزای دفاع سلولی ضد

www.bbooks.ir

ویروس می‌باشند. سلول‌های T_H1 فعال، IL-2، IFN-γ و TNF تولید می‌کنند که مستقیم یا غیر مستقیم علیه ویروس‌ها دفاع می‌کنند. IFN-γ مستقیماً با ایجاد یک حالت ضد ویروسی در سلول عمل می‌کند. IL-2 با حمایت تکوین پیش‌سازهای CTL به صورت غیر مستقیم عمل می‌کند.

هر دو IL-2 و IFN-γ، سلول‌های NKرا فعال کرده که در طول اولین روزهای اکثر عفونت‌های ویروسی، نقش مهمی در دفاع میزبان بازی می‌کنند. در بسیاری از عفونت‌های ویروسی، فعالیت اختصاصی CTL سه تا چهار روز پس از عفونت به وجود آمده و پس از هفت تا ده روز به حداکثر خود رسیده و سپس کاهش می‌یابد. CTLهای ویژه ویروس، خود سلول‌های آلوده به ویروس را از بین برده و بدین طریق منابع بالقوه ویروس جدید را از بین می‌برند.

- ویروس‌ها می‌توانند از مکانیسم‌های دفاعی میزبان فرار کنند

علیرغم اندازه کوچک ژنوم، برخی ویروس‌ها پروتئین‌هایی کد می‌کنند که به میزان مختلف در دفاع‌های اختصاصی یا غیر اختصاصی میزبان دخالت می‌کنند. چنان چه در بالا اشاره شد، IFN-α و IFN-β دفاع ذاتی اصلی علیه عفونت‌های ویروسی می‌باشند اما برخی ویروس‌ها راه کارهایی جهت فرار از فعالیت آنها به کار می‌گیرند. این ویروس‌ها شامل هپاتیت C می‌باشند که مشخص شده با سرکوب یا مهار فعالیت PKR براثر ضد ویروسی اینترفرون‌ها غلبه می‌کنند.

مکانیسم دیگر جهت فرار از پاسخ‌های میزبان که توسط HSV به کار می‌رود، مهار عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های میزبان آلوده می‌باشد. HSV-1 و HSV-2 پروتئینی را بلافاصله پس از تکثیر ویروسی سنتز می‌کنند که ICP47 نام داشته و به طور فوق‌العاده و مؤثری مولکول‌های TAPرا مهار می‌کند.

www.bbooks.ir

هدف قرار دادن مولکول‌های MHC، منحصر به HSV نمی‌باشد و برخی ویروس‌های دیگر نیز کمی پس از عفونت، بیان MHC-I را کاهش می‌دهند. دو مورد از بارزترین نمونه‌ها، آدنوویروس و CMV می‌باشند که مکانیسم‌های متفاوتی را به کار می‌گیرند. برخی از ویروس‌های مثل CMV، ویروس سرخجه و HIV میزان مولکول MHC-II را بر روی سطح سلول کاهش داده و از این طریق، عملکرد ضد ویروسی سلول‌های T_H را متوقف می‌کنند.

شماری از ویروس‌ها مکانیسم‌هایی برای فرار از تخریب بواسطه کمپلمان دارند. برای مثال، ویروس واکسینیا پروتئینی ترشح می‌کند که به جزءC4b کمپلمان اتصال یافته، موجب مهار مسیر کلاسیک می‌شود و HSVها، یک ترکیب گلیکوپروتئینی دارند که به جزء C3b کمپلمان اتصال یافته و موجب مهار مسیرهای فرعی و کلاسیک کمپلمان می‌شود. برخی ویروس‌ها با تغییرات مکرر در آنتی‌ژن‌های خود از حمله ایمنی فرار می‌کنند. در ویروس آنفولانزا تغییر مداوم آنتی‌ژنی موجب ظهور بیشتر سویه‌های عفونت‌زای جدید می‌شود. تغییرات آنتی‌ژنی در بین رینوویروس‌ها مسئول ناتوانی ما در تولید یک واکسن مؤثر جهت سرماخوردگی می‌باشد. تغییرات آنتی‌ژنی در هیچ موردی بیشتر از HIV نمی‌باشد. برآوردها حاکی از آن است که جهش‌های کلی HIV، ۶۵ بار سریع‌تر از ویروس آنفولانزا رخ می‌دهند.

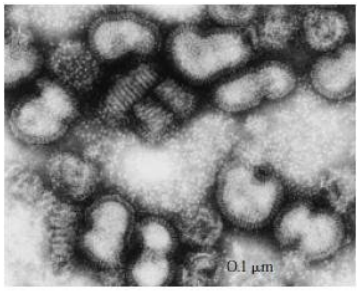
شمار بسیاری از ویروس‌ها با سرکوب ایمنی از پاسخ ایمنی می‌گریزند. از جمله این ویروس‌ها، پارامیکسوویروس‌های عامل اوریون، ویروس سرخجه، EBV، CMV و HIVمی‌باشند. در برخی موارد، سرکوب ایمنی ناشی از عملکرد مستقیم ویروس در لنفوسیت‌ها یا ماکروفاژها می‌باشد. سپس ویروس می‌تواند به طور غیر مستقیم سلول‌های ایمنی را با مکانیسم‌های سایتولیتیک یا تغییر عملکردهای بعدی از بین ببرد. در موراد دیگر، سرکوب ایمنی در نتیجه عدم تولید سایتوکاین‌ها به وجود می‌آید. برای مثال، EBV پروتئین

www.bbooks.ir

BCRF1 را تولید می‌کند که مشابه IL-10 می‌باشد و تولید سایتوکاین‌هایی مثل IL-2، TNFو IFN-γ را توسط سلول‌های T_H1 مهار می‌کند.

- ویژگی‌های ویروس آنفولانزا

ذرات ویروس آنفولانزا یا ویریون‌ها، دارای شکل کروی نامنظم یا بیضی بوده که قطری حدود ۱۰۰-۹۰ متر دارند. این ویریون‌ها با یک پوشش خارجی احاطه می‌شوند. دو گلیکوپروتئینی که در پوشش جای گرفته‌اند، **هماگلوتینین**[1] و **نورآمینیداز**[2] می‌باشند که برآمدگی‌های شعاعی را تشکیل می‌دهند (شکل ۳-۱۸).

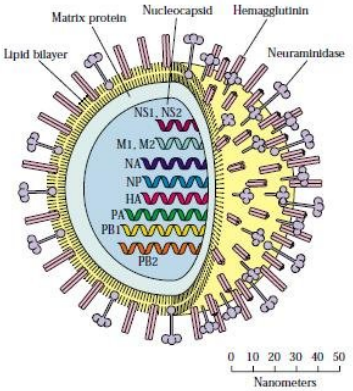


شکل ۳-۱۸: میکروگراف الکترونی ویروس آنفولانزا.

داخل پوشش، یک لایه داخلی از پروتئین ماتریکس، نوکلئوکپسید را فرا گرفته است. نوکلئوکپسید متشکل از ۸ رشته مختلف از RNA تک رشته‌ای (ssRNA) متصل به پروتئین و RNA پلیمراز می‌باشد (شکل ۴-۱۸).

1- hemagglutinin (HA)
2- neuraminidase (NA)

www.bbooks.ir



شکل ۴-۱۸: شمایی از ساختار ویروس آنفولانزا.

هر رشته RNA یک یا چند پروتئین مختلف آنفولانزا را کد می‌کند. سه نوع اصلی آنفولانزا (C, B, A) را می‌توان با اختلاف در نوکلئوپروتئین‌ها و پروتئین‌های ماتریکس آنها از یکدیگر تفکیک نمود. نوع A رایج‌ترین نوع بوده و مسئول پاندمی‌های عمده انسانی می‌باشد. نوع B موجب بیماری انسان (و نه حیوان) شده و نوع C تنها موجب بیماری خفیفی درانسان می‌شود. تغییرات آنتی‌ژنی در هماگلوتینین و نورآمینیداز زیرنوع‌های ویروسی آنفولانزای نوع A را مشخص می‌کنند (جدول ۲-۱۸).

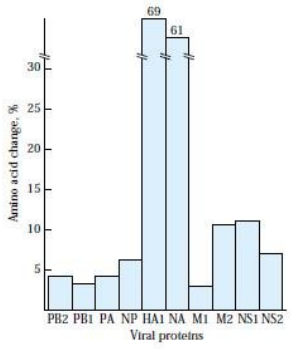
www.bbooks.ir

TABLE 18-2 Some influenza A strains and their hemagglutinin (H) and neuraminidase (N) subtype

Species	Virus strain designation	Antigenic subtype
Human	A/Puerto Rico/8/34	H0N1
	A/Fort Monmouth/1/47	H1N1
	A/Singapore/1/57	H2N2
	A/Hong Kong/1/68	H3N2
	A/USSR/80/77	H1N1
	A/Brazil/11/78	H1N1
	A/Bangkok/1/79	H3N2
	A/Taiwan/1/86	H1N1
	A/Shanghai/16/89	H3N2
	A/Johannesburg/33/95	H3N2
	A/Wuhan/359/95	H3N2
	A/Texas/36/95	H1N1
	A/Hong Kong/156/97	H5N1
Swine	A/Sw/Iowa/15/30	H1N1
	A/Sw/Taiwan/70	H3N2
Horse (equine)	A/Eq/Prague/1/56	H7N7
	A/Eq/Miami/1/63	H3N8*
Bird	A/Fowl/Dutch/27	H7N7
	A/Tern/South America/61	H5N3
	A/Turkey/Ontario/68	H8N4
	A/Chicken/Hong Kong/258/97	H5N1†

*H3N8 has recently been shown to cause flu-like illness in dogs: the species shift occurred with no reassortment of genes.
†As of 2006, a dangerous new H5N1 avian strain has infected approximately 175 humans with 50% mortality.

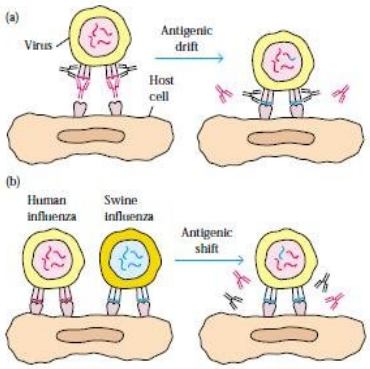
خصوصیت متمایز ویروس آنفولانزا قابلیت تغییرپذیری آن می‌باشد. این ویروس می‌تواند آنتی‌ژن‌های سطحی خود را کاملاً تغییر دهد. تغییرات آنتی‌ژنی در وهله اول موجب تغییر در هماگلوتینین و نورآمینیداز می‌شود (شکل ۵-۱۸).



شکل ۵-۱۸: تنوع توالی اسیدآمینه در ۱۰ پروتئین ویروس آنفولانزا از دو سویه H3N2 و یک سویه H1N1. گلیکوپروتئین های هماگلوتینین و نورآمینیداز بیشترین تنوع توالی را نشان می دهند.

www.bbooks.ir

دو مکانیسم مختلف، موجب این تغییرات آنتی‌ژنی در HA و NA می‌شود. یکی **دریفت‌آنتی‌ژنی**[1] و دیگری **شیفت آنتی‌ژنی**[2]. دریفت آنتی‌ژنی شامل یک سری از جهش‌های نقطه‌ای خودبه خودی است که به تدریج اتفاق افتاده و منجر به تغییرات جزئی می‌گردد. شیفت آنتی‌ژنی منجر به ظهور ناگهانی یک زیرنوع جدید آنفولانزا می‌شود که HA و احتمالاً NA آن به طور قابل توجهی با ویروس‌هایی که در اپیدمی قبلی وجود داشتند، متفاوت می‌باشد(شکل ۶-۱۸).



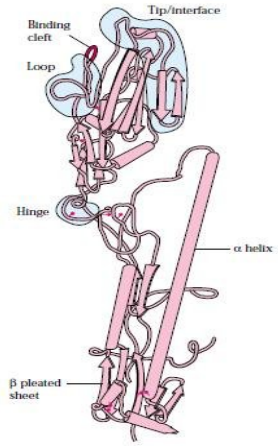
شکل۶-۱۸: دو مکانیسم ایجاد تنوع در آنتی ژن های سطحی آنفولانزا (a) دریفت آنتی ژنی (b) شیفت آنتی ژنی

- پاسخ هومورال به آنفولانزا، اختصاصی سویه می‌باشد

آنتی‌بادی هومورال اختصاصی برای مولکول HA در طول عفونت آنفولانزا تولید می‌شود و این آنتی‌بادی دفاع علیه آنفولانزا را اعطا می‌کند، اما فعالیت آن اختصاصی سویه بوده و با دریفت آنتی‌ژنی به راحتی خنثی می‌گردد. دریفت‌آنتی‌ژنی منجر به جایگزینی اسیدآمینه در چندین حوزه آنتی‌ژنی در انتهای دیستال مولکول می‌شود (شکل ۷-۱۸).

1- antigenic drift
2- antigenic shift

www.bbooks.ir



شکل ۷-۱۸: هماگلوتینین.

دو حوزه حفاظت شده، در هر طرف شیار متصل شونده به اسیدسیالیک وجود دارند که برای اتصال ویریون‌ها به سلول‌های هدف ضروری می‌باشند. آنتی‌بادی اختصاصی سرم برای این دو ناحیه در جلوگیری از عفونت‌زایی اولیه ویروس اهمیت دارند. تیتر این آنتی‌بادی‌ها در چند روز اول عفونت به حداکثر رسیده، پس از ۶ ماه کاهش یافته و به مدت چند سال ثابت می‌ماند. به نظر نمی‌رسد این آنتی‌بادی برای بهبود آنفولانزا ضروری باشد، زیرا بیماران مبتلا به آگاماگلبولینمی، از این بیماری بهبود می یابند. در عوض به نظر می‌رسد آنتی‌بادی سرم نقش مهمی در مقاومت به عفونت مجدد با همان سویه داشته باشد. زمانی که سطح آنتی‌بادی سرمی ضد مولکول HA بالا باشد، انسان و موش به عفونت با ویریون‌های عرضه کننده همان مولکولHA مقاومت نشان می‌دهند.

- H5N1 پرندگان تهدیدی برای یک پاندمی می‌باشد

از سال ۱۹۹۷ شیوع‌های متعددی از آنفولانزای پرندگان در انسان (به ویژه درجنوب آسیا) مشاهده شده است. تقریباً در هر دو مورد، تماس با پرندگان اهلی یا وحشی به عنوان

www.bbooks.ir

منبع عفونت بوده است و هیچ شاهدی مبنی بر انتقال انسانی عفونت در دست نمی‌باشد. با این وجود، بازآرایی ژن‌ها بین سویه‌های کشنده پرندگان و سویه‌های عامل اپیدمی انسانی می‌تواند موجب یک پاندمی وسیع شود. در واقع، با در نظر گرفتن این که سویه‌های پرندگان به برخی از داروها مقاومند، تهدید این واقعه شدت می‌یابد. اخیراً مدل‌سازی ویروسی که در سال ۱۹۱۸ عامل پاندمی بود، با استفاده از یافته‌های حاصل از تعیین توالی ویروس‌های موجود در بافت‌های قربانیان (اجساد منجمد در منطقه آلاسکا) انجام شد. تحلیل ژنومی نشان می‌دهد که ویروس سال ۱۹۱۸ از سویه‌های پرندگان مشتق شده بود و در حال حاضر بررسی گسترده‌ای روی ویروس مدل‌سازی شده در حال انجام است. به خصوص تأکید و توجه روی عواملی می‌باشد که موجب کشندگی بیش از حد آن شده است. این تحقیقات بایستی تهدید نسبی H5N1 را در حال حاضر ثابت کند.

- عفونت‌های باکتریایی

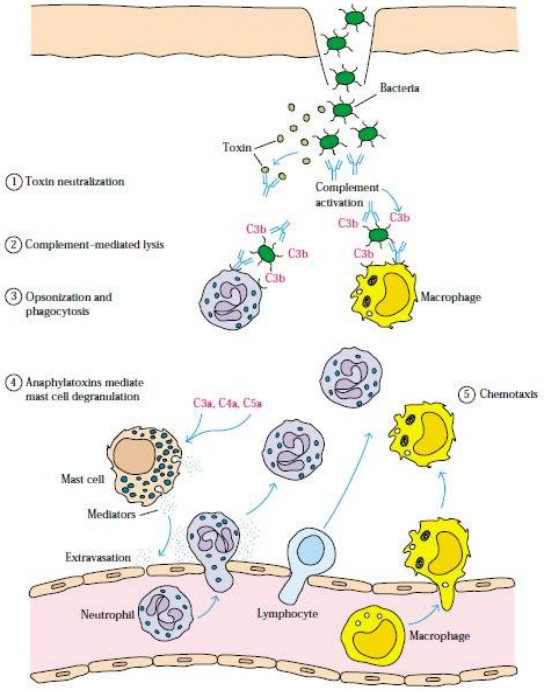
ایمنی در عفونت‌های باکتریایی بوسیله آنتی‌بادی ایجاد می‌شود، مگر این که باکتری قادر به رشد درون سلولی باشد که در این موارد، ازدیاد حساسیت تأخیری نقش مهمی دارد. باکتری‌ها از طریق هر یک از راه‌های طبیعی (دستگاه تنفس، دستگاه گوارش و دستگاه ادراری – تناسلی) و یا راه‌هایی که از طریق طبیعی قابل دسترسی نیستند و با بریدگی غشای مخاطی یا پوست ایجاد می‌شوند، وارد بدن می‌گردند.

بسته به تعداد ارگانیسم وارد شده به بدن و قدرت بیماری‌زایی آنها، میزان متفاوتی از دفاع میزبان مورد نیاز می‌باشد. در صورتی که میزان تلقیح شده و قدرت بیماری‌زایی آن، هر دو کم باشد، فاگوسیت‌های بافتی می‌توانند باکتری‌ها را با یک دفاع ذاتی (غیراختصاصی) از بین ببرند. مقادیر بالای ارگانیسم تلقیحی یا میکرب‌هایی با قدرت بیماری‌زایی بیشتر، منجر به یک پاسخ ایمنی اختصاصی می‌گردند.

www.bbooks.ir

- پاسخ ایمنی به باکتری‌های داخل سلولی و خارج سلولی متفاوت می‌باشد

عفونت با باکتری‌های خارج سلولی موجب تشکیل آنتی‌بادی می‌گردد. پاسخ ایمنی هومورال عمده‌ترین پاسخ دفاعی علیه باکتری‌های خارج سلولی می‌باشد. این آنتی‌بادی‌ها به منظور دفاع میزبان از ارگانیسم‌های مهاجم به چندین روش عمل می‌کنند که شامل از بین بردن باکتری و غیرفعال‌ساختن توکسین‌های باکتریایی می‌باشد (شکل ۸-۱۸).



شکل مروری ۸-۱۸: مکانیسم های وابسته به آنتی بادی جهت دفاع علیه باکتری های خارج سلولی (۱) آنتی بادی، توکسین های باکتریایی را خنثی می کند. (۲) فعال شدن کمپلمان (۳) اپسونیزاسیون و بیگانه خواری (۴) C3a و C5a که در نتیجه فعال شدن کمپلمان تولید می شوند. (۵) سایر محصولات کموتاکتیک کمپلمان.

باکتری‌های خارج سلولی ممکن است پاتوژن باشند زیرا پاسخ‌های التهابی موضعی ایجاد کرده و یا توکسین تولید می‌کنند. توکسین‌ها (اگزوتوکسین یا اندوتوکسین) ممکن است

www.bbooks.ir

سایتوتوکسیک بوده و یا با روش‌های دیگری موجب بیماری شوند. یک مثال بارز از این مورد، توکسین دیفتری می‌باشد که اثر سمی خود را بر روی سلول، از طریق مهار سنتزپروتئین اعمال می کند.

آنتی‌بادی متصل شونده به آنتی‌ژن‌های سطحی باکتری، به همراه جزء C3b کمپلمان به عنوان یک اپسونین عمل کرده و فاگوسیتوز را افزایش می‌دهد، بنابراین موجب پاکسازی باکتری‌ها می‌گردد (شکل ۸-۱۸). در مورد برخی باکتری‌ها بخصوص باکتری‌های گرم منفی، فعال شدن کمپلمان ممکن است موجب لیز مستقیم ارگانیسم شود. فعال شدن سیستم کمپلمان درحضور آنتی‌بادی، همچنین ممکن است موجب تولید موضعی مولکول‌های اجرایی ایمنی شود که به ایجاد یک پاسخ التهابی موضعی و شدیدتر کمک می‌کند.

- باکتری‌ها می‌توانند به طور مؤثری از مکانیسم‌های دفاعی میزبان فرار کنند

چهار مرحله اولیه در عفونت‌های باکتریایی وجود دارد:

- اتصال به سلول‌های میزبان
- تکثیر
- تهاجم به بافت میزبان
- تخریب سلول‌های میزبان بوسیله توکسین

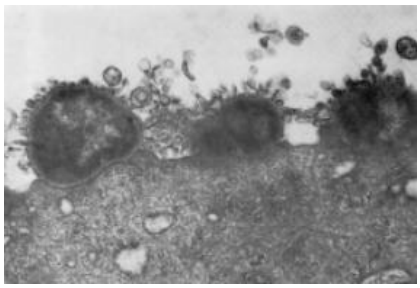
برخی مکانیسم‌های دفاعی میزبان در هریک از این مراحل عمل کرده و بسیاری از باکتری‌ها چندین مرحله از این مراحل را به کار می‌گیرند (جدول ۳-۱۸).

www.bbooks.ir

TABLE 18-3 Host immune responses to bacterial infection and bacterial evasion mechanisms

Infection process	Host defense	Bacterial evasion mechanisms
Attachment to host cells	Blockage of attachment by secretory IgA antibodies	Secretion of proteases that cleave secretory IgA dimers (*Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*) Antigenic variation in attachment structures (pili of *N. gonorrhoeae*)
Proliferation	Phagocytosis (Ab- and C3b-mediated opsonization)	Production of surface structures (polysaccharide capsule, M protein, fibrin coat) that inhibit phagocytic cells Mechanisms for surviving within phagocytic cells Induction of apoptosis in macrophages (*Shigella flexneri*)
	Complement-mediated lysis and localized inflammatory response	Generalized resistance of gram-positive bacteria to complement-mediated lysis Insertion of membrane-attack complex prevented by long side chain in cell-wall LPS (some gram-negative bacteria)
Invasion of host tissues	Ab-mediated agglutination	Secretion of elastase that inactivates C3a and C5a (*Pseudomonas*)
Toxin-induced damage to host cells	Neutralization of toxin by antibody	Secretion of hyaluronidase, which enhances bacterial invasiveness

برخی باکتری‌ها ساختارها یا مولکول‌های سطحی دارند که توانایی آنها را در اتصال به سلول‌های میزبان افزایش می‌دهند. به عنوان مثال، برخی از باکتری‌های گرم منفی دارای پیلی بوده که آنها را قادر ساخته تا به غشای دستگاه گوارشی یا ادراری- تناسلی متصل شوند (شکل ۹-۱۸).



شکل ۹-۱۸: میکروگراف الکترونی از اتصال نایسریا گونوره آ به سلول های اپی تلیال مجاری ادراری به واسطه پیلی سطح گونوکوک.

باکتری‌های دیگر مثل بوردتلاپرتوسیس مولکول‌های چسبانی را ترشح می‌کنند که سبب اتصال باکتری به سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه تنفسی فوقانی می‌شود. آنتی‌بادی‌های IgA ترشحی ویژه چنین ساختارهای باکتریایی، می‌توانند مانع اتصال باکتری به سلول‌های اپی‌تلیال مخاطی شوند و دفاع اصلی میزبان در برابر اتصال باکتری می‌باشند. با این حال، برخی

www.bbooks.ir

باکتری‌ها مثل نیسریا گونه‌رآ، هموفیلوس آنفولانزا و نیسریامننژیتیدیس با ترشح پروتئاز IgA، از پاسخ هومورال IgA فرار می‌کنند.

برخی باکتری‌ها دارای ساختارهای سطحی می‌باشند که بیگانه‌خواری را مهار می‌کنند. یک نمونه کلاسیک آن، استرپتوکوک‌پنومونیه می‌باشد که کپسول پلی‌ساکاریدی آن به طور فوق‌العاده مؤثری مانع بیگانه‌خواری می‌شود. ۸۴ سروتایپ از استرپتوکوک‌پنومونیه وجود دارد که بواسطه پلی‌ساکاریدهای کپسولی متفاوت، از یکدیگر تمایز می‌یابند و در طول عفونت، میزبان علیه سروتایپ عفونت‌زا آنتی‌بادی تولید می‌کند. این آنتی‌بادی در برابر عفونت مجدد با همان سروتایپ عفونت‌زا، محافظت کننده بوده ولی در برابر سایر سروتایپ‌ها حفاظت کننده نمی‌باشد.

در مورد باکتری‌های دیگر، مثل استرپتوکوک‌پیوژن، یک برآمدگی پروتئینی سطحی که پروتئین M نامیده می‌شود، بیگانه‌خواری را مهار می‌کند. برخی از استافیلوکوک‌های پیوژن قادرند از پروتئین‌های خون میزبان، پوششی حفاظتی برای خود ایجاد کنند. این باکتری‌ها آنزیم کوآگولاز ترشح می‌کنند که در ایجاد پوشش فیبرینی اطراف آنها دخیل بوده و آنها را از سلول‌های بیگانه‌خوار در امان می‌دارد. مکانیسم‌های مداخله در سیستم کمپلمان به بقای برخی باکتری‌ها کمک می‌کند. مثلاً در برخی از باکتری‌های گرم منفی، زنجیره جانبی طویل بر روی بخش لیپید A پلی‌ساکارید مرکزی دیواره سلولی، به مقاومت در برابر لیز توسط کمپلمان کمک می‌کند. سودوموناس آنزیمی به نام الاستاز ترشح می‌کند که آنافیلاتوکسین‌های C5a و C3a را غیر فعال می‌کند و به موجب آن، واکنش التهابی موضعی را کاهش می‌دهد. برخی از باکتری‌ها مثل لیستریا منوسیتوژنز با فرار از فاگولیزوزوم به سیتوپلاسم سلول‌های بیگانه‌خوار، زنده می‌مانند. باکتری‌های دیگری مثل مایکوباکتریوم آویوم الحاق لیزوزوم به فاگوزوم را مهار کرده و همچنین برخی مایکوباکتریوم‌ها به حمله اکسیداتیو صورت گرفته در فاگولیزوزوم‌ها مقاومند.

www.bbooks.ir

- پاسخ‌های ایمنی می‌توانند در بیماری‌زایی باکتریایی دخیل باشند

در برخی عفونت‌های باکتریایی، علائم بیماری تنها به موجب خود پاتوژن به وجود نیامده، بلکه بواسطه پاسخ ایمنی شکل گرفته علیه پاتوژن ایجاد می‌شود. به عنوان مثال، اندوتوکسین‌های دیواره سلولی برخی باکتری‌های گرم منفی، ماکروفاژها را فعال کرده و موجب رها سازی مقادیر فراوانی IL-1 و TNF-α می‌شود که می‌تواند موجب شوک سپتیک گردند. درمسمومیت غذایی استافیکوکوکی و سندرم شوک توکسیک، اگزوتوکسین‌های تولید شده توسط پاتوژن ها به عنوان سوپرآنتی‌ژن عمل کرده و می‌توانند تمام سلول‌های T که Vβ یکسانی را عرضه می‌کنند را فعال کنند. بسیاری از علائم بیمای، در نتیجه تولید بیش از اندازه سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های T_H فعال ایجاد می‌شوند. این سایتوکاین‌ها می‌توانند موجب تجمع گسترده و فعال شدن ماکروفاژها گردند که در نتیجه، باعث تشکیل **گرانولوما**[1] می‌شود. تراکم موضعی آنزیم‌های لیزوزومی در این گرانولوماها می‌تواند موجب نکروز وسیع بافتی شود.

- دیفتری را می‌توان با ایمن‌سازی توسط توکسوئیدهای غیرفعال کنترل کرد

دیفتری مثال کلاسیکی از بیماری باکتریایی است که در نتیجه اگزوتوکسین ترشحی به وجود آمده و می‌توان توسط ایمن‌سازی با یک توکسوئید غیر فعال، علیه آن ایمنی ایجاد کرد. عامل این بیماری یک باسیل گرم مثبت به نام کورینه باکتریوم دیفتریه می‌باشد که در سال ۱۸۸۳ برای اولین با توسط تئوردوکلبس[2] معرفی شد ویک سال بعد توسط لوفلر مشخص شد که عامل دیفتری در خرگوش و خوکچه هندی می‌باشد. اتوپسی حیوانات آلوده نشان داد که اگر چه رشد باکتری تنها به مکان تلقیح محدود می‌شود اما تخریب گسترده‌ای در اندام‌هایی مثل قلب، کبد و کلیه به وجود می آید.

1- granuloma
2- theodor klebs

www.bbooks.ir

این یافته‌ها لوفلررا برآن داشت که تصور کند علائم قلبی و عصبی این بیماری در اثر یک ماده سمی ایجاد می‌شوند. نظریه لوفلر در سال ۱۸۸۸ مورد تأیید قرار گرفت. در این زمان یرسین[1] و رون[2] با تزریق محیط کشت فیلتر شده کورینه باکتریوم، بیماری را در حیوانات ایجاد کردند. دو سال بعد، فون بهرینگ نشان داد که آنتی‌سرم علیه توکسین، از مرگ جانوران آلوده جلوگیری می‌کند. وی بوسیله مجاورت توکسین با تری‌کلیرید ید، توکسوئیدی تهیه کرد ونشان داد که این توکسوئید می‌تواند آنتی‌بادی دفاعی را در حیوانات القا کند.

در نتیجه افزایش ایمن‌سازی با توکسوئید، تعداد موارد دیفتری به سرعت کاهش یافت. در سال ۱۹۲۰، تقریباً ۲۰۰ مورد دیفتری از هر ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت در ایالات متحده وجود داشت. در سال ۲۰۰۴ مراکز کنترل بیماری، هیچ‌گونه دیفتری را در مناطق تحت پوشش واکسیناسیون، گزارش نکردند. عفونت طبیعی با کورینه باکتریوم دیفتریه تنها در انسان رخ می‌دهد. این بیماری توسط ذرات تنفسی موجود در هوا از فردی به فرد دیگر منتقل می‌شود. این ارگانیسم در نازوفارنکس استقرار یافته و در لایه‌های سطحی مخاط تنفسی باقی می‌ماند. رشد این ارگانیسم به تنهایی موجب آسیب جزئی بافت می‌شود و فقط یک واکنش التهابی خفیف ایجاد می‌کند. قدرت این بیماری‌زایی این ارگانیسم تماماً ناشی از توکسین قوی آن می‌باشد. این توکسین موجب آسیب بافت‌های پایه شده در نتیجه موجب تشکیل غشای کاذب خشن فیبرینی (سودوممبران) می‌شود که از فیبرین، سلول‌های سفید خونی و سلول‌های مرده اپی‌تلیال تنفسی تشکیل شده است. خود این غشا می‌تواند موجب خفگی شود. این اگزوتوکسین همچنین مسئول علائم گسترده منتشری می‌باشد. آسیب‌های عمده میوکارد و آسیب‌های عصبی رایج می‌باشد. اگروتوکسینی که موجب علائم دیفتری می‌شود، توسط ژن tox کد می‌شود. در برخی سویه‌های کورینه باکتریوم دیفتریه، فاژ β

1- A. Yersin
2- P. Roun

www.bbooks.ir

ممکن است به حالت **لیزوژنی**[1] درآید. اگزوتوکسین دیفتری بی‌نهایت قوی است بـه طـوری که یک مولکول آن، یک سلول را می‌کشد. حذف زنجیره اتصـالی از ورود اگزوتوکسـین بـه سلول جلوگیری می‌کند و آن را به صورت غیرسمی در می‌آورد. امروزه توکسوئید دیفتـری به وسیله مجاورت سم با فرمالدئید تهیه می‌شود. ایمونیزاسیون با توکسـوئید موجـب تولیـد آنتی‌بادی‌هایی می‌شود که می‌توانند به توکسین متصل شده و فعالیت آن را خنثی نمایند. از آنجایی که میزان آنتی‌بادی به تدریج با گذشت زمان کاهش می‌یابد، به منظور حفظ سـطح آنتی‌بادی محافظت کننده، دوزهای یادآور به فاصله زمانی ۱۰ سال توصیه می‌شود.

- مایکوباکتریوم توبرکولوزیس به طور اولیه توسط سلول‌های $CD4^+T$ کنترل می‌شود

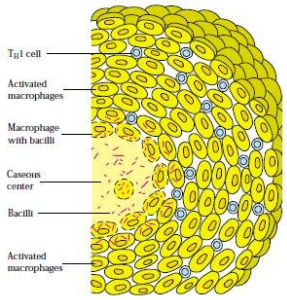
باسیل سل یک عامل عفونت‌زای منحصر به فرد در دنیاست که به مـرگ منجـر شـده و هرساله حدود ۱/۵ میلیون نفر را از پای در می‌آورد. حـدود یـک سـوم جمعیـت جهـان بـا مایکوباکتریوم توبرکولوزیس آلوده بوده و در خطر ابتلا به این بیماری می‌باشند. هر چند که چندین گونه مایکوباکتریوم می‌توانند موجب سل شوند ولی عامل اصـلی آن، مایکوبـاکتریوم توبرکولوزیس می‌باشد. این باکتری به راحتی گسترش یافتـه و معمـولاً در نتیجـه استنشـاق ذرات کوچک ترشحات تنفسی، عفونت ریوی رخ می‌دهد.

باسیل‌های استنشاق شده توسط ماکروفاژهای آلوئولار بلعیده شده و قادرند با مهار تشکیل فاگولیزوزوم‌ها زنده بمانند و به صورت درون سلولی‌تکثیر یابند. بـا لیـز شـدن ماکروفاژهـا، تعداد زیادی باسیل از آنها رها می‌شود. یک پاسخ سلولی شامل سلول‌های $CD4^+T$ کـه بـه منظور ایمنی علیه مایکوباکتریوم توبرکولوزیس ضروری است، ممکن است مسئول بسیاری از

1- lysogeny

www.bbooks.ir

آسیب‌های بافتی در این بیماری باشد. اساس تست پوستی توبرکولین (PPD) میزان فعالیت سلول $CD4^+T$ می‌باشد (شکل ۱۰-۱۸).



شکل ۱۰-۱۸: یک توبرکل ایجاد شده در سل ریوی

چنان‌چه این زخم‌های کازئوس بهبود یابند، لایه‌لایه شده و به آسانی با پرتو x قابل مشاهده می‌باشند که به آن مجموعه گون[1] گفته می‌شود. از آنجایی که ماکروفاژهای فعال، تکثیر باسیل های بیگانه‌خواری شده را متوقف می‌سازند، عفونت کنترل می‌شود. سایتوکاین‌های مترشحه از سلول‌های T_H1، نقش مهمی در پاسخ مربوط به ماکروفاژهای فعال دارند به طوری که قادرند باسیل‌ها را از بین برده یا رشد آنها را مهار کنند. نقش IFN-γ در پاسخ به مایکوباکتریوم‌ها با مطالعه بر روی موش‌های فاقد IFN-γ اثبات شده است. این موش‌ها هنگامی که با یک سویه تخفیف حدت یافته مایکوباکتریوم (BCG)آلوده می‌شوند، می‌میرند.

بررسی‌های اخیر نشان می‌دهند که IL-12 در ترشحات ریوی مبتلایان به سل، به میزان زیادی وجود دارد. میزان بالای IL-12 تولید شده توسط ماکروفاژهای فعال چندان دور از ذهن نمی‌باشد، زیرا این سایتوکاین نقش عمده‌ای در تحریک پاسخ‌های وابسته به T_H1 دارد. در مدل‌های موشی سل مشخص شده که IL-12 جهت افزایش مقاومت به این بیماری

1- Gohn Complex

www.bbooks.ir

تولیـد شـده و نـه تنهـا موجـب تحریـک ایجـاد سـلولهای T_H1 مـی‌شـود بلکـه موجـب تولیدکموکاین‌هایی می‌شود که ماکروفاژها را به محل عفونت فرا می‌خوانند. زمانی که IL-12 با آنتی‌بادی ضد خـود خنثـی مـی‌شـود، شـکل‌گیـری گرانولومـا در مـوش‌هـای مبـتلا بـه توبرکولوزیس متوقف می‌شود.

پاسخ ایمنی سلول $CD4^+$ در اکثر افرادی که در معرض مایکوباکتریوم توبرکولوزیس قرار می گیرند، افزایش می یابد، بنابراین عفونت کنترل شده و دفاع علیـه عفونـت صـورت مـی گیرد. با این وجود حدود ۱۰٪ افراد آلوده با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس یک الگـوی بـالینی متفاوت را نشان می‌دهند. این بیماری به سل ریوی مزمن یا سـل خـارج ریـوی[1] پیشـرفت می‌کند. در این الگوی بالینی، افزایش تراکم بیش از حد آنتی‌ژن‌های مایکوباکتریایی به همراه توبرکل‌ها منجر بـه فعـال‌سـازی مـزمن وشـدید سـلول $CD4^+T$ و در نتیجـه فعـال شـدن ماکروفاژها می‌شود. در نتیجه تراکم بالای آنزیم‌های لایتیک، زخم‌های نکروزی کـازئوس تـا آبکی ایجاد می‌شوند و محیطی مناسب و غنی به وجود می‌آید که امکان تکثیر خارج سـلولی باسیل سل را فراهم می‌آورد. نهایتاً این زخم‌ها فروپاشیده و باسیل‌ها در ریه پخش شده و یا از طریق خون و عروق لنفاوی به حفره ریوی، استخوان، سیستم ادراری تناسـلی، پـرده هـای مغز، صفاق یا پوست گسترش می‌یابند.

سل بوسـیله چنـدین دارو درمـان مـی‌شـود. ایـن داروهـا شـامل ایزونیازیـد، ریفـامپین، استرپتوماسین، پیرازینامید و اتامبوتول می‌باشند. درمان ترکیبی ایزونیازید و ریفامپین به طور ویژه‌ای مؤثر است. با این حال، رشـد داخـل سـلولی مایکوبـاکتریوم دسـتیابی دارو بـه ایـن باسیل‌ها را دشوار ساخته است. به همین دلیل، درمان دارویی بایستی حداقل به مدت ۹ ماه ادامه داشته باشد تا باکتری ریشه‌کن شود. برخی از بیماران، هـیچ علائمـی بـالینی را نشـان نمی‌دهند و در برخی دیگر، علائم دو تا چهار هفته پس از شروع درمـان، بهبـود مـی‌یابنـد. جهت جلوگیری از اثرات جانبی مربوط به درمان آنتی‌بیوتیکی، بسیاری از بیماران همین کـه

1- extrapolmunary tuberculasis

www.bbooks.ir

احساس بهبودی کنند، درمان را قطع می‌کنند. به علت این که درمان کوتاه‌تر، نمی‌تواند ارگانیسم‌هایی را تا حدی به این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومند، از بین ببرد، ممکن است یک سویه مقاوم به چند دارو پدیدار شود.

در حال حاضر تنها واکسن سل، یک سویه تخفیف حدت یافته مایکوباکتریوم بویس به نام BCG می‌باشد. به نظر می‌رسد این واکسن اثر دفاعی کارآمد و نسبتاً خوبی علیه سل خارج ریوی داشته باشد اما علیه سل ریوی اثری موقتی دارد. در بررسی های مختلف، BCG تا ۸۰٪ موارد واکسناسیون، محافظت ایجاد کرده است، در برخی موارد، واکسیناسیون BCG حتی خطر ابتلا به عفونت را افزایش داده است. علاوه بر این، پس از واکسیناسیون BCG، آزمون پوستی توبرکولین را نمی‌توان به عنوان یک کنترل مؤثر جهت تشخیص مواجهه با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس به کار برد. به علت اثربخشی متغیر واکسن BCG و ناتوانی در تشخیص این که آیا تست پوستی بیمار در مواجهه با باکتری مثبت شده یا در نتیجه واکسیناسیون، این واکسن در ایالات متحده مورد استفاده قرار نمی‌گیرد.

- بیماری‌های انگلی

واژه پارازیت شمار بسیاری از تک یاخته‌ها و کرم‌ها را در بر می‌گیرد که عمدتاً کشورهای در حال توسعه به آنها دچار می‌شوند. به دلیل تنوع دنیای انگلی، یک قاعده کلی برای عملکرد آنها وجود ندارد، اما تفاوت عمده بین انواع انگل‌ها این است که تک‌یاخته‌ها، یوکاریوت‌های تک سلولی می‌باشند که معمولاً در سلول‌های میزبان زنده مانده و تکثیر می‌یابند. در حالی که انگل‌های کرمی ارگانیسم‌های چند سلولی می‌باشند که به انسان حمله کرده و توانایی زنده ماندن و تکثیر با انسان را دارند.

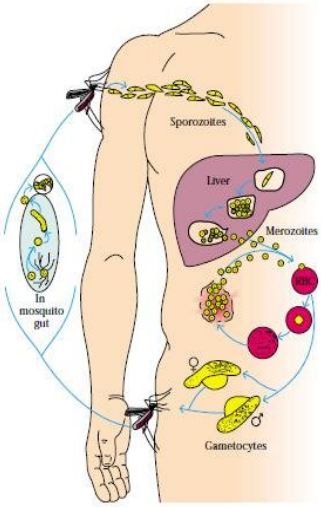
www.bbooks.ir

- بیماری‌های پروتوزوآیی، میلیون‌ها نفر را در جهان مبتلا می‌سازند

پروتوزوآها مسئول بیماری‌های خطرناکی مثل آمیبیاز، بیماری شاگاس، بیماری خواب آفریقای، مالاریا، لیشمانیازیس و توکسوپلاسموزیس در انسان می‌باشند. نوع پاسخ ایمنی که نسبت به عفونت پروتوزوآیی ایجاد می‌شود و کارایی این پاسخ، تا حد زیادی بستگی به موقعیت انگل در میزبان دارد.

- چرخه زندگی پلاسمودیوم و بیماری‌زایی مالاریا

پلاسمودیوم در طی مجموعه مشخصی از مراحل تکوین و بلوغ در چرخه بی‌نهایت پیچیده خود، گسترش می‌یابد. پشه‌های آنوفل ماده که از خون تغذیه می‌کنند، به عنوان ناقل پلاسمودیوم عمل می کنند و قسمتی از چرخه زندگی انگل در پشه صورت می گیرد. عفونت انسانی زمانی آغاز می‌شود که اسپوروزوئیت‌ها بواسطه پشه ای که از خون آلوده تغذیه کرده وارد جریان خون یک فرد شوند (شکل ۱۱-۱۸).



شکل ۱۱-۱۸: چرخه زندگی انگل پلاسمودیوم

www.bbooks.ir

پس از ۳۰ دقیقه اسپوروزوئیت‌ها در خون گسترش یافته و به کبد مهاجرت کرده و هپاتوسیت‌ها را آلوده می‌کنند. اسپوروزوئیت (CS)پوشیده می‌شوند. در کبد، اسپوروزوئیت‌ها به شدت تکثیر یافته و متحمل تغییرات پیچیده‌ای می‌شوند که موجب به حداکثر رساندن تولید و رهاسازی اسپوروزوئیت‌ها در طی یک هفته می‌شود. برآورد شده که یک هپاتوسیت کبد می‌تواند ۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ مروزوئیت رها کند. زمانی که مروزوئیت‌های رها شده گلبول‌های قرمز را آلوده کنند، علائم و بیماری‌زایی مالاریا شروع می‌شود. سرانجام برخی از مروزوئیت‌ها به گامتوسیت‌های نر و ماده تمایز یافته که ممکن است در طی تغذیه پشه آنوفل ماده از خون، بلعیده شوند. در روده پشه، گامتوسیت‌های نر و ماده به گامت تبدیل شده و ترکیب آنها موجب شکل‌گیری زیگوت یا تخم می‌شود که تکثیر یافته و در غدد بزاقی پشه به اسپوروزوئیت تمایز می‌یابند.

- پاسخ میزبان به عفونت پلاسمودیوم

در مناطقی که مالاریا آندمیک است، پاسخ ایمنی به عفونت پلاسمودیوم ضعیف می‌باشد. در برخی مناطق، میزان مرگ و میر ناشی از مالاریا در کودکان به ۵۰٪ می‌رسد و در جهان این بیماری هر ساله حدود یک میلیون کودک را از بین می‌برد. پاسخ ایمنی پایین به پلاسمودیوم در بین کودکان را می‌توان با اندازه‌گیری سطح آنتی‌بادی‌های سرم در مرحله اسپوروزوئیت سنجید که تنها ۲۲٪ کودکان مناطق آندمیک دارای این آنتی بادی ها هستند در حالی که ۸۴٪ بالغین چنین آنتی‌بادی‌هایی را دارند. حتی در بالغین سطح ایمنی خیلی پایین‌تر از حد طبیعی است. با این حال، اغلب افرادی که در مناطق آندمیک زندگی می‌کنند، در طول زندگی خود عفونت‌های خفیف پلاسمودیوم را تجربه می‌کنند. برخی عوامل ممکن است در پاسخ دهی پایین سیستم ایمنی به پلاسمودیوم دخیل باشند. مرحله درون سلولی چرخه زندگی در هپاتوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها موجب کاهش فعالیت ایمنی علیه پاتوژن می‌شود و به ارگانیسم امکان تکثیر می‌دهد. علاوه بر این، در مرحله

www.bbooks.ir

اسپوروزوئیت، پاتوژن تنها ۳۰ دقیقه در خون گردش می‌کند و فعالیت مؤثر ایمنی که بتواند در چنین دوره کوتاهی رخ دهد، امکان‌پذیر نیست.

- طراحی واکسن مالاریا

واکسن مؤثر برای مالاریا بایستی مکانیسم‌های دفاعی ایمنی را به حداکثر برساند. متأسفانه نقشی که پاسخ‌های سلولی و هومورال در ایجاد ایمنی دفاعی علیه این بیماری ایفا می‌کنند، چندان شناخته شده نیست در شیوه‌های متداول طراحی واکسن مالاریا از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. یک هدف مشخص، مرحله اسپوروزوئیت است. متوقف کردن اولین مرحله تهاجم می‌تواند از عفونت پیشگیری کند.

پشه‌های ماده، آنتی‌بادی‌های فرد واکسینه شده را در حین تغذیه از خون، بلعیده و این آنتی‌بادی‌ها از ایجاد مراحل بعدی چرخه زندگی انگل پیشگیری می‌کنند و پشه نمی‌تواند بیماری را به یک فرد نیش خورده دیگر انتقال دهد و چرخه انتقال به طور مؤثری متوقف می‌شود. تا به امروز هیچ واکسن مؤثری برای مالاریا ساخته نشده اما جا داشته با بررسی‌های بیشتری صورت پذیرد و روش‌های متنوعی آزمون شوند.

- دو گونه تریپانوزوها موجب بیماری خواب آفریقایی می‌شوند

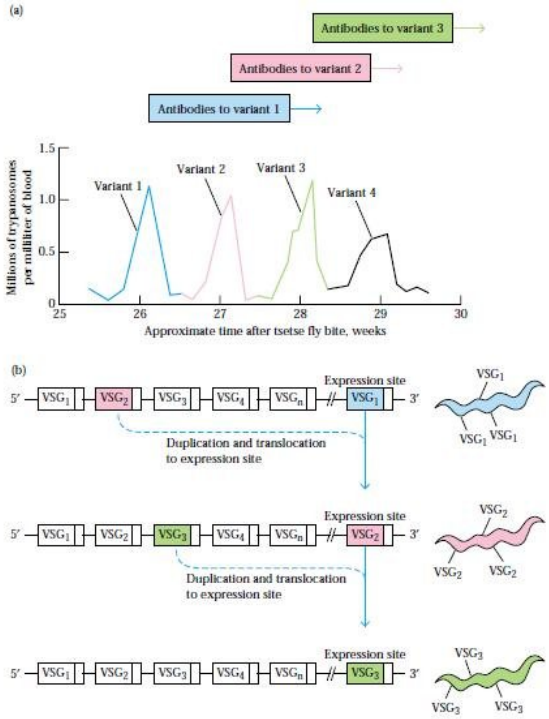
دو گونه تریپانوزوم آفریقایی که فلاژل‌دار می‌باشند، می‌توانند موجب بیمای خواب شوند. درجریان خون، تریپانوزوم به شکل باریک و کشیده تمایز می‌یابند که به صورت مداوم هر چهار تا شش ساعت یک بار تقسیم می‌شود. این بیماری با یک مرحله اولیه شروع می‌شود که در آن تریپانوزوم‌ها در خون تکثیر یافته و به یک مرحله نورولوژیک که در آن، انگل سیستم عصبی مرکزی را آلوده می‌کند پیشرفت کرده و موجب مننگوآنسفالیت و متعاقب آن کاهش سطح هوشیاری فرد می‌شود.

www.bbooks.ir

چنان چه پس از عفونت تعداد انگل افزایش یابد، یک پاسخ آنتی‌بادی هومورال علیه **پوشش گلیلوپروتئینی واریانت** (VSG) ایجاد می‌شود(شکل ۱۲-۱۸).

این آنتی‌بادی‌ها بسیاری از انگل‌های موجود در جریان خون را از طریق لیز با واسطه کمپلمان وبا اپسونیزاسیون و بیگانه‌خواری از بین می‌برند. با این وجود، ۱٪ ارگانیسم‌هایی که VSG متفاوت از نظر آنتی‌ژنیک تولید می‌کنند، از پاسخ اولیه آنتی‌بادی می‌گریزند. چندین روند ژنتیکی غیر معمول، موجب تغییرات گسترده‌ای در VSG تریپانوزومایی می‌شوند که ارگانیسم را قادر می‌سازد تا از پاکسازی ایمنی فرار کند. یک تریپانوزوما گنجینه‌ای از ژن‌های VSG را حمل می‌کند که هر یک توالی اولیه‌ای از یک VSG متفاوت را کد می‌کنند. برای مثال تریپانوزوما بروسئی حاوی ۱۰۰۰ ژن VSG در ژنوم خود می‌باشد که در چندین جایگاه کروموزومی متراکم شده‌اند. یک تریپانوزوم در یک زمان تنها یک ژن منفرد VSG را بیان می‌کند. فعال شدن یک ژن VSG منجر به دو تا شدن این ژن و تغییر موقعیت آن به یک جایگاه بیان فعال نسخه‌برداری (ES) در انتهای تلومری کروموزوم‌های خاصی می‌شود (شکل ۱۳-۱۸).

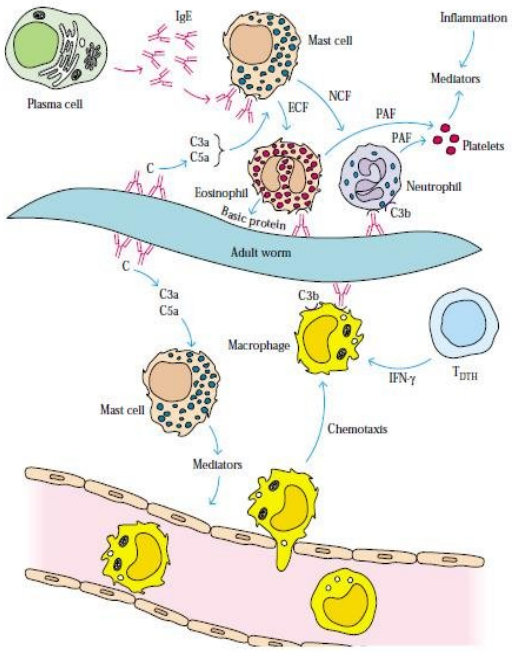
www.bbooks.ir



شکل مروری ۱۲-۱۸: موج های متوالی پارازیتمی پس از عفونت با تریپانوزوما ناشی از شیفت های آنتی ژنی در گلیکوپروتئین متغیر سطحی می باشد. (a) القای آنتی بادی توسط واریانت های مختلف (b) شیفت های آنتی ژنی در انگل.

یک ژن جدید VSG فعال شده، جایگزین ژن قبلی موجود درجایگاه بیان تلومری می‌شود. تعدادی از کروموزوم‌های تریپانوزوما دارای جایگاه‌های بیان فعال نسخه‌بـرداری در انتهـای تلومری خود می‌باشند، به طوری که در یک زمان چندین ژن VSG توانایی بیان شدن را به صورت بالقوه داشته اما مکانیسم‌هایی که موجب می شود تنها یـک جایگـاه بیـان VSG در یک زمان فعال باشد، هنوز شناخته نشده‌اند.

www.bbooks.ir



شکل مروری ۱۳-۱۸: مروری بر پاسخ ایمنی ایجاد شده بر ضد شیستوزوما مانسونی.

- لیشمانیازیس، مدل خوبی برای اثبات تفاوت در پاسخ‌های میزبان می‌باشد

انگل پروتوزوآیی لیشمانیا ماژور یک نمونه بارز و با ارزش جهت بررسی چگونگی تفاوت‌ها در پاسخ میزبان در افراد مختلف می‌باشد. این تفاوت‌ها ممکن است منجر به پاکسازی انگل و یا مرگ در نتیجه عفونت گردد لیشمانیا درفاگوزوم‌های ماکروفاژها زندگی می‌کند. مقاومت به عفونت، ارتباط قوی با INF-γ و ایجاد پاسخ T_H1 دارد.

برخی از موش‌ها، نظیر BALB/c به لیشمانیا بسیار حساس بوده و اغلب در نتیجه عفونت از پای در می‌آیند. این موش‌ها پاسخ نوع T_H2 را نسبت به لیشمانیا ایجاد می‌کنند. میزان فراوانی IL-4 تولید کرده و ضرورتاً IFN-γ تولید نمی‌کنند. بنابراین، یکی از تفاوت‌ها بین دفاع کارآمد و ناکارآمد علیه انگل، به ترتیب، ایجاد پاسخ T_H1 یا T_H2 می‌باشد.

www.bbooks.ir

- بیماری‌های قارچی

قارچ شناسان برآورد می‌کنند که میلیون‌ها گونه قارچ وجود دارد که حدود ۴۰۰ گونه از آنها عامل بیماری انسانی می‌باشند. عفونت‌ها ممکن است در نتیجه ورود ارگانیسم‌های خارجی از طریق آسیب‌بافتی یا استنشاق و یا ارگانیسم‌های داخلی به سبب تضعیف ایمنی بدن ایجاد شوند. محصولات قارچی ممکن است توکسیک، کارسینوژنیک یا حتی هالوسینوژنیک (توهم‌زا) باشند. بیماری‌های قارچی یا مایکوزها به صورت زیر طبقه‌بندی می‌شوند:

- برحسب محل عفونت (سطحی، جلدی، زیرجلدی و سیستمیک)
- برحسب راه اکتساب (اگزوژن و اندوژن)
- برحسب قدرت بیماری‌زایی (اولیه یا فرصت طلب)

عفونت‌های زیرجلدی اغلب از طریق تروما ایجاد شده و با التهاب همراه می‌شوند. در صورتی که التهاب مزمن باشد، ممکن است تخریب وسیع بافتی ایجاد گردد. عفونت‌های عمقی اغلب ریه‌ها، سیستم عصبی مرکزی، استخوان‌ها و احشای شکمی را درگیر می‌کنند. عفونت از طریق بلغ، تنفس یا تقلیح به جریان خون صورت می‌گیرد. قدرت بیماری‌زایی به دو نوع اولیه (عوامل با قدرت بیماری‌زایی بالا) و فرصت طلب (عوامل با قدرت بیماری‌زایی ضعیف که اغلب، افراد با سیستم ایمنی تضعیف شده را مبتلا می‌کنند) می‌باشد، بسیاری از عفونت‌های قارچی در افراد سالم سریعاً برطرف می‌شوند و علائم کلینیکی اندکی دارند. معمول‌ترین پاتوژن‌های قارچی در انسان، کریپتوکوکوس نئوفورمنس، آسپرژیلوس فومیگاتوس، کوکسیدیوئیدس ایمیتیس، هیستوپلاسما کپسولاتوم و بلاستومایس‌درماتیدیس می‌باشند. بیماری‌هایی که از این عوامل به وجود می‌آیند، برحسب عامل ایجاد کننده نام‌گذاری می‌شوند، برای مثال کریپتوکوکوس نئوفورمنس عامل کریپتوکوکوزیس می‌باشد.

www.bbooks.ir

- ایمنی ذاتی بسیاری از عفونت‌های قارچی را کنترل می‌کند

سدهای ایمنی‌ذاتی بسیاری از قارچ‌ها را کنترل می‌کنند. بیگانه‌خواری بواسطه نوتروفیل‌ها یک پاسخ دفاعی قوی علیه بسیاری از قارچ‌ها بوده و افراد نوتروپنیک به بیماری‌های قارچی حساس می‌باشند. فعال‌سازی مسیر آلترنایتو و لکتین کمپلمان با اجزای موجود در دیواره سلولی قارچی آغاز شده و در افراد سالم، برطرف شدن عفونت به صورت طبیعی و سریع صورت می‌گیرد. پروتئین متصل شونده به مانوز، اکثر پاتوژن‌های قارچی مهم را شناسایی می‌کند که شامل کاندیدا آلبیکنس و برخی سویه‌های کریپتوکوکوس نئوفورمنس و آسپرژیلوس فومیگاتوس می‌باشند. فعال‌سازی کمپلمان از طریق هر یک از این مسیرها امکان اتصال اجزای کمپلمان و ارگانیسم‌را فراهم آورده که موجب بیگانه‌خواری و تخریب داخل سلولی با مکانیسم‌های کشتار وابسته به اکسیژن می‌شود. در مورد عفونت‌های ریوی، پروتئین‌های سورفکتانت موجود در ریه پاتوژن‌ها متصل شده و بیگانه‌خواری آنها را افزایش می‌دهند. پذیرنده های سطحی سلولی (مثل CR1، CR3، CR4) به پروتئین‌های قارچی متصل شده و بیگانه‌خواری را میانجی‌گری کرده و یا موجب شروع بیان سایتوکاین‌ها می‌شوند که سلول‌های ایمنی را آماده فعالیت می‌کنند. بررسی‌های اخیر در مورد نقش TLRها در مواجهه با عفونت قارچی نشان می‌دهد که TLR2 و TLR4 به کریپتوکوکوس نئوفورمنس، آسپرژیلوس فلاووس و کاندیداآلبیکنس از طریق MyD88 پاسخ می‌دهند.

- ایمنی علیه پاتوژن‌های قارچی ممکن است اکتسابی باشد

شواهد قانع کننده‌ای از ایمنی اکتسابی علیه عفونت قارچی و دفاع علیه حملات بعدی که به دنبال عفونت رخ می‌دهد، وجود دارد. این دفاع در مورد ویروس‌ها و باکتری‌ها به سادگی قابل اثبات است، اما در مورد عفونت‌های قارچی چندان واضح و روش نمی‌باشد، زیرا اغلب عفونت‌های اولیه بدون علامت هستند. واکنش مثبت پوستی به آنتی‌ژن‌های قارچی، شاخص خوبی برای تشخیص عفونت قبلی و وجود ایمنی سلولی است. در مورد عفونت‌های بافتی،

www.bbooks.ir

یک التهاب گرانولوماتوز، گسترش کریپتوکوکوس و هیستوپلاسما را کنترل می‌کند، که نشان دهنده وجود ایمنی سلولی اکتسابی است.

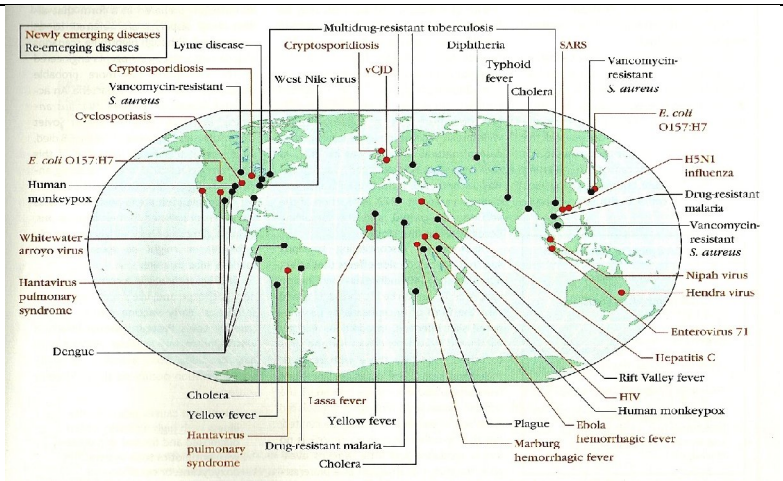
ارگانیسم ممکن است در فاز نهفته به صورت گرانولوما باقی بماند و تنها در صورتی که میزبان دچار سرکوب ایمنی شود، مجدداً فعال می‌شود. معمولاً وجود آنتی‌بادی نشانه عفونت برطرف شده می‌باشد. به عنوان مثال، آنتی‌بادی‌های ضد کریپتوکوکوس که معمولاً در افراد سالم یافت می‌شوند، نشان‌دهنده عفونت قبلی می‌باشد.

- بیماری‌های عفونی نوظهور (پدیداری)

هر چند سال یک‌بار، در مورد پیدایش یک ویروس یا باکتری جدید مطالب تازه‌ای می‌شنویم. پاتوژن‌هایی که جدیداً توصیف می‌شوند **پاتوژن‌های ظهوری**[1] تلقی می‌شوند. برخی از بیماری‌های ظهوری در شکل ۱۴-۱۸ مطرح شده‌اند. HIV نمونه‌ای از یک پاتوژن ظهوری می‌باشد.

1- emerging pathogens

www.bbooks.ir



شکل ۱۴-۱۸: مثال هایی از خواستگاه بیماری های ظهوری و نوظهور.

- بیماری‌ها ممکن است به دلایل مختلفی مجدداً ظاهر شوند

پاتوژن‌های خطرناکی که کم‌کم ناپدید شده‌اند، به صورت دوره‌ای و ناگهانی می‌توانند تعداد زیادی از افراد را آلوده سازند. این شیوع‌ها به عنوان بیماری‌های عفونی نوظهور تلقی می‌شوند. ظهور مجدد این بیماری‌ها با در نظر گرفتن این که باکتری‌ها می‌توانند تقریباً خود را با هر محیطی سازگار کنند، چندان شگفت‌آور نیست. در صورتی که این باکتری‌ها بتوانند خود را با دمای سوزان نقاط داغ اعماق اقیانوس‌ها وفق‌دهند، پذیرفتن توانایی فرار آنها از داروهای ضد میکربی چندان دشوار نمی‌باشد.

- برخی از بیماری‌های کشنده، اخیراً ظاهر شده‌اند

برخی از بیماری‌ها، ظاهراً از هیچ جایی نشأت نگرفته و عامل ایجاد کننده آنها را به عنوان پاتوژن‌های جدید می شناسیم. این پاتوژن‌ها شامل ویروس جهانی ابولا و لژیونلا پنوموفیلا می‌باشند. ابولا اولین‌بار پس از یک شیوع در آمریکا در سال ۱۹۷۶ تشخیص داده شد و به علت شدت بیماری و این که پس از شروع علائم به سرعت به سمت مرگ پیش‌می‌رود،

www.bbooks.ir

مورد توجه زیادی قرارگرفت. در سال ۱۹۷۷ ویروس عامل این بیماری جدا شد و به عنوان یک فیلوویروس دسته‌بندی گردید. ابولا عامل تب خونریزی دهنده شدید می‌باشد که بیش از ۵۰٪ افراد آلوده را از بین می‌برد. با این حال، اگر چه خطر مرگ پس از عفونت بسیاربالاست ولی کنترل گسترش ویروس با قرنطینه افراد آلوده بسیار آسان می‌باشد.

بیماری لژیونر یک پنومونی شدید است که اولین بار در ۲۲۱ نفر که در یک مجمع لژیون آمریکایی در فیلادلفیا شرکت کرده بودند گزارش شد. ارگانیسم عامل این بیماری تا زمانی که به عنوان یک باکتری به نام لژیونلا پنوموفیلا تشخیص داده شود، به صورت یک راز باقی مانده بود. این باکتری در مناطق مرطوب و سرد مانند بخش تراکم کننده سیستم‌های تهویه هوا تکثیر می‌یابد. عفونت ممکن است زمانی که سیستم تهویه هوا یک آئروسل حاوی باکتری را به خارج منتشر می‌کند، گسترش یابد. از آنجایی که امروزه خطرات چنین آئروسل‌هایی مشخص شده است، طراحی بهتر سیستم‌های تهویه هوا و لوله‌کشی به طور قابل توجهی خطر این بیماری را کاهش می‌دهد.

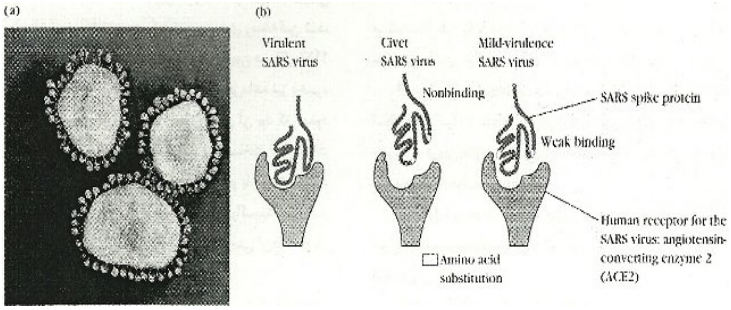
- شیوع SARS یک عکس‌العمل سریع بین‌المللی را در برداشت

در نوامبر سال ۲۰۰۲، یک پنومونی آتیپیک ناشناخته در استان گوآندونگ چین مشاهده شد. چندماه بعد، این بیماری در ۷ استان دیگر شیوع یافت. در فوریه سال ۲۰۰۳ ، پزشکی که از یک بیمار مبتلا به این بیماری مراقبت می‌کرد، به هنگ‌کنگ مسافرت کرد. وی که به این بیماری مبتلا شده بود، شانزده میهمان دیگر را در هتلی که اقامت داشت، آلوده کرد. سپس این میهمانان یک شیوع چند بومی را ایجاد کردند که تا پایان سال ۲۰۰۳ ادامه پیدا کرد. این شیوع بسیار سریع، مشاورین را بر آن داشت تا مسافرین بین‌المللی را جدا کرده و کسانی را که با افراد آلوده تماس داشتند را بسیار دقیق، قرنطینه کنند.

از این زمان به بعد، بیماری حتی با وجود اقدامات بسیار تخصصی بهداشتی ادامه یافت و از ۸۰۹۶ مورد گزارش شده، ۷۷۴ مورد با مرگ همراه بود. در راستای این تراژدی انسانی و

www.bbooks.ir

نگرانی‌های ناشی از این بیماری، این بیماری سندرم فوق‌حاد تنفسی (SARS) نامیده شد و برآورد می‌شود خسارت اقتصادی ناشی از آن حدود ۱۰ میلیارد دلار بوده است. عکس‌العمل سریع جامعه تحقیقاتی زیست-پزشکی بلافاصله عامل اتیولوژیک SARS را به عنوان یک کوروناویروس تشخیص داد، که به دلیل پروتئین‌های پپلومری که از این ویروس نشأت گرفته و ظاهری شبیه تاج به آن می‌دهد به این نام خوانده می‌شود (شکل ۱۵-۱۸).



شکل ۱۵-۱۸: کورونا ویروس عامل شیوع سندرم تنفسی فوق حاد (SARS). (a) این ویروس با زوائدی پوشیده شده است که ظاهری شبیه تاج به آن می دهد و علت نامگذاری آن نیز همین می باشد. (b) پذیرنده انسانی ویروس سارس، آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ (ACE2) می باشد.

کوروناویروس‌های انسانی سالهاست که شناخته شده‌اند اما بیماری‌های اصلی انسانی که به آنها نسبت داده می‌شوند، فرم خفیفی از سرماخوردگی معمولی هستند. با این حال، واریانت‌هایی که جدیداً پدیدارشده‌اند، تا قبل از این در انسان مشاده نشده بود. پس از اولین موارد SARS که در دست فروشان حیوانات مشاهده شد، به وجود این بیماری در گربه پی‌برده شد. یافته‌های پیشین نشان می‌دهد که خفاش‌ها می‌توانند مخزن اولیه کوروناویروس‌های عامل SARS باشند. مدل‌های حیوانی ایجاد شده برای عفونت ویروس SARS نشان می‌دهند ضد پروتئین های پپلومر خارجی می‌توانند تکثیر ویروس را به تأخیر اندازند. چندین واکسن کاندید، پیشنهاد شده‌اند و بررسی و آزمون آنها آغاز شده است. خوشبختانه اپیدمی خطرناک زمستانی رخ نداده و نیازی به کوشش‌های شدید در بهداشت

www.bbooks.ir

عمومی نمی‌باشد. سئوالات مربوط به شیوع SARS عبارتند از این که چگونه این ویروس از حیوان به انسان منتقل شده و چگونه قادر است به سرعت در جمعیت انسانی گسترش یابد؟ پاسخ این سئوال با بلورنگاری اشعه x ساختارهای پروتئین پپلومر ویروس SARS در تماس با پذیرنده خود (آنزیم مبدل آنژیوتانیسین انسانی نوع دو یا ACE2) به دست آمد. جهش در دو اسید آمینه پروتئین پپلومر ویروس که در تماس با ACE2 می‌باشد، ویروس را به شکلی تبدیل کرده که ۱۰۰۰ بار قوی‌تر به پروتئین انسانی اتصال می‌یابد. اهمیت میل پیوندی اتصال بین پروتئین پپلومر و ACE2 با تحلیل توالی یک ویروس SARS در یک مورد خفیف از بیماری، تأیید می‌شود. پروتئین پپلومر این شکل تخفیف یافته از ویروس جهش‌هایی در جایگاه اتصال داشته که تنها به طور ضعیفی به ACE2 اتصال می‌یابند (شکل ۱۵-۱۸).

- خلاصه

- پاسخ‌های ایمنی ذاتی، اولین دفاع علیه پاتوژن‌ها را تشکیل می‌دهند. این پاسخ‌ها شامل سدهای فیزیکی مثل پوست و تولید غیراختصاصی اجزای کمپلمان، سلول‌های بیگانه‌خوار و سایتوکاین‌های اختصاصی است که در پاسخ به عفونت با پاتوژن‌های مختلف تولید می‌شوند.
- پاسخ ایمنی به عفونت‌های ویروسی شامل هر دو بازوی سلولی و هومورال می‌باشد که ویروس سریعاً جهش یافته و از پاسخ هومورال فرار می‌کند.
- پاسخ ایمنی به عفونت‌های باکتریایی خارج سلولی، عموماً توسط آنتی‌بادی صورت می‌گیرد. آنتی‌بادی می‌تواند لیز باکتری را در حضور کمپلمان فعال کند، توکسین‌ها را خنثی ساخته و به منظور افزایش بیگانه‌خواری، به عنوان یک اپسونین عمل نماید. دفاع میزبان علیه باکتری‌های داخل سلولی به طور عمده‌ای به پاسخ‌های سلولی $CD4^+T$ بستگی دارد.

www.bbooks.ir

- هر دو پاسخ سلولی و هومورال در ایمنی علیه عفونت‌های پروتوزوآیی دخیل می‌باشند. عموماً آنتی‌بادی هومورال علیه مراحل چرخه زندگی پروتوزوآی موجود در خون مؤثر است، اما در موارد آلودگی سلول‌های میزبان، ایمنی سلولی ضروری می‌باشد. پروتوزوآها از طریق چندین مکانیسم از پاسخ ایمنی فرار می‌کنند.
- بیماری‌های قارچی یا مایکوزها، به ندرت در حالت طبیعی و افراد سالم وخامت می‌یابند، اما مشکلات بیشتری برای افراد مبتلا به نقص ایمنی ایجاد می‌کنند. هر دو ایمنی ذاتی و اکتسابی، عفونت حاصل از قارچ‌های رایج را کنترل می‌کنند.
- پاتوژن‌های ظهوری و نوظهور شامل برخی از پاتوژن‌هایی می‌باشند که جدیداً توصیف شده‌اند و یا تصور می‌شود که توسط اقدامات بهداشت جهانی کنترل شده‌اند. عواملی که منجر به ظهور چنین پاتوژن‌هایی می‌شوند شامل افزایش مسافرت و ازدحام گسترده برخی از جمعیت‌ها می‌باشد.

- سئوالات درسی

۱- اثر MHC بر روی پاسخ ایمنی علیه پپتیدهای نوکلئوپروتئین ویروس آنفولانزا در موش‌های $H\text{-}2^b$ که قبلاً با ویریون زنده آنفولانزا ایمن شده بودند مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت CTL لنفوسیت‌های اولیه با اندازه‌گیری CML (با استفاده از فیبروبلاست‌های $H\text{-}2^K$ به عنوان سلول‌های هدف) تعیین شد.سلول‌های هدف با ژن‌های MHC-I($H\text{-}2^b$) مجاور شدند و یا با آنفولانزای زنده آلوده شده و یا با پپتیدهای نوکلئوپروتئین مصنوعی مجاور شدند. نتایج این بررسی‌ها درجدول زیر آورده شده است.

www.bbooks.ir

Target cell (H-2^k fibroblast)	Test antigen	CTL activity of influenza-primed H-2^b lymphocytes (% lysis)
(A) Untransfected	Live influenza	0
(B) Transfected with class I D^b	Live influenza	60
(C) Transfected with class I D^b	Nucleoprotein peptide 365–380	50
(D) Transfected with class I D^b	Nucleoprotein peptide 50–63	2
(E) Transfected with class I K^b	Nucleoprotein peptide 365–380	0.5
(F) Transfected with class I K^b	Nucleoprotein peptide 50–63	1

الف) چرا سه تا از سلول‌های هدف حتی با آلوده شدن با آنفولانزای زنده از بین نرفتند؟

ب) چرا یک پاسخ CTL نسبت به نوکلئوپروتئین در سیستم C ایجاد می‌شود؟

پ)چرا سه پاسخ مناسب CTL در سیستم C نسبت به پپتید ۳۸۰-۳۶۵ ایجاد می‌شود، در حالی که هیچ پاسخی نسبت به پپتید ۶۳-۵۰ در سیستم D ایجاد نمی‌شود؟

ت)اگر قصد داشته باشید یک واکسن پپتیدی مصنوعی برای آنفولانزای انسانی بسازید، چگونه نتایج بدست آمده در موش را در طراحی واکسن خود به کار می‌گیرید؟

۲- دفاع‌های غیر اختصاصی در زمانی که میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا برای اولین بار وارد بدن می‌شوند را توضیح دهید.

۳- مکانیسم‌های دفاع اختصاصی مختلف که سیستم ایمنی جهت مباره با پاتوژن‌های مختلف به کار می‌گیرد را توضیح دهید.

۴- نقش پاسخ هومورال در ایمنی نسبت به آنفولانزا چیست؟

۵- مکانیسم‌های بی‌نظیر تریپانوزوم آفریقایی و گونه ‌ای پلاسمودیوم را در فرار از پاسخ ایمنی توضیح دهید.

www.bbooks.ir

۶- M. F.Good و همکارانش اثر هاپلوتایپ MHC را بر روی پاسخ آنتی‌بادی به آنتی‌ژن پپتیدی اسپوروزوئیت‌های در جریان خون مالاریا را در چندین سویه از موش‌های نوترکیب بررسی کردند که نتایج آنها در جدول زیر آمده است:

Strain	H-2 alleles					Antibody response to CS peptide
	K	IA	IE	S	D	
B10.BR	*k*	*k*	*k*	*k*	*k*	<1
B10.A (4R)	*k*	*k*	*b*	*b*	*b*	<1
B10.HTT	*s*	*s*	*k*	*k*	*d*	<1
B10.A (5R)	*b*	*b*	*k*	*d*	*d*	67
B10	*b*	*b*	*b*	*b*	*b*	73
B10.MBR	*b*	*k*	*k*	*k*	*q*	<1

SOURCE: Adapted from M. F. Good et al., 1988, *Annual Review of Immunology*. 6:633.

الف) کدام مولکول MHC به عنوان عامل محدود کننده برای این آنتی‌ژن پپتیدی به کار گرفته می‌شود؟

ب) از آنجایی که تشخیص آنتی‌ژن توسط سلول‌های B، منحصر به MHC نمی‌باشد، چرا پاسخ هومورال از هاپلوتایپ MHC تأثیر می‌پذیرد؟

۷- جاهای خالی را در عبارات زیر پر کنید.

الف) واکسن رایج برای سل، متشکل از یک سویه تخفیف حدت یافته مایکوباکتریوم بویس می‌باشد که ---------- نامیده می‌شود.

www.bbooks.ir

ب)تغییرات در پروتئین‌های سطحی آنفولانزا از طریق ---------- و -------- به وجود می‌آید.

پ) واکسن دیفتری از مجاورت اگزوتوکسین با فرمالدئید تهیه می‌شود که یک ---- نامیده می‌شود.

ت) اولین دفاع میزبان علیه اتصال باکتریایی و ویروسی به سطوح اپی‌تلیال ------- می‌باشد.

ث)دو سایتوکاین مهم در پاسخ به عفونت با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس، شامل --- (که توسعه سلول‌های T_H1 را موجب شده) و ----------(که فعال‌سازی ماکروفاژها را تشدید می‌کند) می‌باشند.

۸- چرا علیرغم عدم وجود واکسن معتبر برای عفونت‌های قارچی، این عفونت‌ها هیچ مشکلی برای جمعیت عمومی ایجاد نمی‌کنند؟ چه کسانی ممکن است در معرض خطر این عفونت‌ها باشند؟

۹- کدام یک از عوامل دخیل در ظهور بیماری جدید، منجر به شیوع SARS در سال ۲۰۰۳ گردید؟

۱۰-کدام یک از مکانیسم‌های زیر جهت فرار از سیستم ایمنی توسط پاتوژن به کار گرفته می‌شود؟ برای هر پاسخ صحیح یک مثال بیاورید.

الف) تغییر آنتی‌ژن‌های عرضه شده بر روی سطح خود

ب) به حالت خفته در آمدن در سلول‌های میزبان

پ)ترشح پروتئاز جهت غیرفعال کردن آنتی‌بادی‌ها

ت)کاهش دادن قدرت بیماری‌زایی

ث) ایجاد مقاومت به لیز در حضور کمپلمان

ج)امکان جهش‌های نقطه‌ای در اپی‌توپ‌های سطحی که به دریفت آنتی‌ژنی منجر می‌شود.

www.bbooks.ir

۱۱-کدام یک از موارد زیر از مشخصات پاسخ التهابی علیه عفونت‌های باکتریایی خارج سلولی می‌باشند؟

الف) فعال‌سازی سلول CD8+T خود واکنشگر

ب) تورم ایجاد شده در نتیجه رهاسازی وازودیلاتورها

پ)دگرانولاسیون ماست‌سل‌های بافتی

ت) بیگانه خواری توسط ماکروفاژها

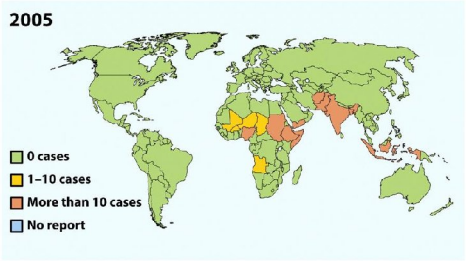
www.bbooks.ir

فصل نوزدهم

واکسن‌ها

- ایمونیزاسیون فعال و غیرفعال
- طراحی واکسن‌ها برای ایمونیزاسیون فعال
- واکسن‌های زنده ضعیف‌شده
- واکسن‌های غیرفعال یا کشته شده
- واکسن های زیرواحد
- واکسن‌های کونژوگه
- واکسن‌های DNA
- واکسن‌های ناقل نوترکیب

www.bbooks.ir



نظام حاکم بر ایمونولوژی، ریشه در آزمایشات اولیه ادواردجنر و لویی پاستور در زمینه واکسیناسیون دارد. به واسطه این تلاش‌های پیشگامانه، برای بسیاری از بیماری‌ها که پیش ازاین مایه رنج بشری بودند، واکسن‌هایی تولید شده‌اند. شیوع بیماری‌هایی از قبیل دیفتری، سرخک، اوریون، سیاه‌سرفه، سرخچه (سرخک آلمانی)، فلج اطفال و کزاز با متداول شدن واکسیناسیون، به طور واضحی کاهش یافته است. واکسیناسیون یک سلاح با ارزش و مؤثر در پیشگیری از بیماری‌ها می‌باشد. شاید در هیچ مورد دیگری، مزایای واکسیناسیون به اندازه ریشه‌کنی آبله که یکی از طولانی‌ترین و وحشتناک‌ترین دردهای بشری بوده، بارز نبوده باشد. از اکتبر ۱۹۷۷ هیچ موردی از ابتلای طبیعی به آبله در هیچ‌جای دنیا گزارش نشده است. این امر مشوق برنامه ریشه‌کنی فلج اطفال از طریق واکسیناسیون در مقایس وسیع می‌باشد. این برنامه بدلیل توقف واکسیناسیون در نیجریه و برخی مناطق هند و پاکستان و نیز دیگر کشورهایی که بیماری در آنها شیوع دارد مثل یمن و اندونزی، با پسرفت جدی مواجه شد که شیوع مشهود فلج اطفال را در پی این توقف ایمن‌سازی نشان دادند. خوشبختانه، امروزه این برنامه مجدداً آغاز شده و در حال اجراست و معرفی یک واکسن تک ظرفیتی جدید که علیه یک سویه خاص ایمنی ایجاد می‌کند، در مناطقی که تنها همین سویه پولیو وجود دارد، کارآیی داشته است. یک ضمیمه جدید به سلاح‌های موجود علیه بیماری‌های دوران کودکی، واکسن علیه پنومونی باکتریایی که عامل عمده مرگ و میر کودکان است، می‌باشد.

www.bbooks.ir

نیاز آشکاری به تولید واکسن علیه سایر بیماری‌ها وجود دارد. هر ساله میلیون‌ها نفر در سراسر جهان به علت مالاریا، سل و ایدز که واکسن مؤثری برای آنها وجود ندارد، جان خود را از دست می‌دهند. سازمان بهداشت جهانی (WHO) تخمین زده است که روزانه ۱۴۰۰۰ نفر با ویروس HIV-1 که عامل بیماری ایدز است، آلوده می‌شوند. یک واکسن مؤثر می‌تواند اثر شگرفی روی کنترل این گسترش غم‌بار مرگ و بدبختی داشته باشد. علاوه بر رفع چالش‌های مربوط به بیماری‌هایی که واکسنی برای آنها وجود ندارد، نیاز به بهبود ایمنی و کارآیی واکسن‌های موجود و یافتن راهی برای کاهش قیمت و توزیع کافی آنها برای تمام افراد نیازمند به این واکسن‌ها، به خصوص در کشورهای در حال توسعه، احساس می‌شود. سازمان بهداشت جهانی تخمین می‌زند که مرگ میلیون‌ها کودک در جهان در نتیجه بیماری‌هایی است که می‌توان توسط واکسن‌های موجود، از ابتلای به آنها جلوگیری کرد(قسمت تمرکز بالینی).

مسیر توسعه موفق واکسن‌های ایمن و کارآمد که بتوانند برای مصارف انسانی به کارروند، با قیمت معقولی تولید شده و به طور مؤثر در اختیار جمعیت‌های در معرض خطر قرار گیرند، طولانی،هزینه بر و خسته‌کننده می‌باشد. مراحل تولید موادی که قابل استفاده توسط انسان باشند به شدت تنظیم شده می‌باشند، به طوری که در کارآزمایی‌های بالینی، دستورالعمل‌هایی جهت آزمودن این مواد وجود دارند. حتی واکسن‌های کاندیدی که بررسی‌های دقیق اولیه را طی کرده‌اند و مجوز لازم جهت استفاده در آزمایش‌های انسانی را دریافت کرده‌اند، تضمینی برای استفاده عمومی ندارند. تجربه نشان داده که هر واکسنی که در آزمایشگاه و مطالعات حیوانی با موفقیت همراه بوده الزاماً موجب پیشگیری از بیماری در انسان نمی‌شود. برخی از واکسن‌ها عوارض جانبی ناخواسته‌ای ایجاد می‌کنند که بعضی از آنها حتی ممکن است بدتر از خود بیماری باشند. واکسن‌های زنده یک تهدید ویژه برای افراد مبتلا به نقص ایمنی اولیه یا اکتسابی به حساب می‌آیند. (فصل ۲۰).

www.bbooks.ir

شکل‌گیری واکسن‌ها با تحقیقات پایه‌ای آغاز می‌شود. پیشرفت‌های اخیر در زمینه ایمونولوژی و زیست‌شناسی مولکولی منجر به تولید واکسن‌های مؤثر جدید و تدابیر نویدبخش برای یافتن واکسن‌های جدید شده‌اند. آگاهی از تفاوت‌های بین اپی‌توپ‌هایی که توسط سلول‌های B و Tمورد شناسایی قرار می‌گیرند، ایمونولوژیست‌ها را قادر به طراحی واکسن‌هایی کرده که می‌توانند پاسخ‌های ایمنی سلولی وهومورال را به حداکثر برسانند. هنگامی که تفاوت‌های مسیرهای پردازش آنتی‌ژن آشکار شدند، دانشمندان شروع به طراحی واکسن‌ها و استفاده از ادجوانت‌هایی نمودند که روندهای ایمنی‌ذاتی را فعال کنند و عرضه آنتی‌ژن توسط مولکول‌های MHC کلاس I و II را افزایش دهند. تکنیک‌های مهندسی ژنتیک می‌توانند در راستای شکل‌گیری واکسن‌ها به منظور افزایش پاسخ ایمنی به اپی‌توپ‌های انتخابی و همچنین تحویل آسان‌تر واکسن‌ها به کار روند. در این فصل، واکسن‌هایی که هم‌اکنون مورد استفاده قرار می‌گیرندو همچنین استراتژی‌های تولید واکسن مثل نتایج تجربیات انجام شده که می‌توانند ما را به سمت واکسن‌های آینده سوق دهند را شرح می‌دهیم.

- تمرکز بالینی

- واکسیناسیون: چالش‌های موجود درایالات متحده و کشورهای در حال توسعه

بسیاری از بیماری‌های شایع دوران کودکی در گذشته، امروزه به ندرت در ایالات متحده دیده می‌شوند، که نشانگر مؤثر بودن واکسیناسیون می‌باشد. مانع اصلی چنین موفقیتی در سایر نقاط جهان، مشکلات مربوطه به تحویل واکسن به تمامی کودکان است. با این وجود، حتی خود ایالات متحده نیز قربانی این موفقیت خودمی‌باشد. برخی از والدینی که هرگز با بیماری‌هایی که هم‌اکنون در ایالات متحده، تقریباً ریشه‌کن شده‌اند، مواجه نشده‌اند، به اهمیت واکسیناسیون نوزادان خود توجه نمی‌کنند و یا ممکن است جدول زمان‌بندی ایمن‌سازی را رعایت نکنند. سایرین نیز ناآگاهانه براین باورند که خطرات مربوط به

www.bbooks.ir

واکسیناسیون، مهمتر از خطرات خود بیماری هستند. این استدلال غلط با ادعاهایی مبنی بر مرتبط بودن واکسیناسیون با برخی از ناهنجاری‌ها مثل گزارشاتی مبنی بر ارتباط واکسیناسیون و بیماری اوتیسم که حالتی با علت نامشخص می باشد، تقویت می‌گردد. اکثر این گزارشات، منحصراً به دلیل همزمانی واکسیناسیون با شروع بیماری و همچنین نمونه‌گیری‌های محدود و تجزیه و تحلیل‌های آماری ضعیف، ایجاد می‌شوند. تاکنون هیچ ارتباط مستدلی بین واکسیناسیون و ناهنجاری‌ها که با بررسی‌های دقیق، مثل نمونه‌های جمعیتی بزرگ و روش‌های آماری قابل قبول به اثبات رسیده باشند، در دسترس نمی‌باشد.

اگر چه در ایالات متحده، کودکان در برابر بیماری‌های مهلک محافظت می‌شوند ولی این محافظت به تداوم برنامه‌های ایمن‌سازی بستگی دارد. وابستگی به ایمنی جمعی، هم برای خود فرد و هم برای جامعه خطرناک است و ممکن است با شکست نیز مواجه شود. تخمین زده می‌شود که در مورد واکسن فلج اطفال، جهت شکستن زنجیره انتقال به پوشش ۹۵درصدی نیاز می‌باشد. واکنش‌های ناخواسته به واکسن‌ها می‌بایست دقیقاً بررسی شوند و البته اگر واکسنی با عوارض جانبی غیر قابل قبولی همراه باشد، می‌بایست برنامه واکسیناسیون مجدداً مورد بررسی قرار گیرد. در عین حال، گزارشات موردی ایجاد بیماری توسط واکسن و باورهای اثبات نشده مثل تضعیف سیستم ایمنی توسط واکسن‌ها ، باید توسط اطلاعات صحیح از منابع قابل اعتماد مورد مخالفت قرار گیرند. عدم پذیرش واکسن، مانع از پیشرفت در ایمونیزاسیون شده و ما را به زمانی بر می‌گرداند که سرخک، اوریون، سیاه سرفه و فلج اطفال بخشی از خطرات دوران رشد انسان بودند.

کودکان، در کشورهای در حال توسعه از مشکلاتی متفاوت با ایالات متحده رنج می‌برند. مطالعه مرگ و میر نوزادن سراسر جهان نشان می‌دهد که واکسن‌های موجود، می‌توانند زندگی میلیون‌ها کودک را نجات دهند. این واکسن‌ها برای۵ مورد از ۱۰ مورد بیماری‌های مهلک کودکان، ایمن و مؤثر هستند (جدول زیر).

www.bbooks.ir

Estimated annual deaths worldwide of children under 5 years of age, by pathogen

Pathogen	Deaths (thousands)
Pneumococcus[*]	841
Measles	530
Haemophilus (strains a–f)[†]	945
Rotavirus[†]	800
Malaria	700
HIV	500
RSV	500
Pertussis	285
Tetanus	201
Tuberculosis	100

[*]Bold signifies pathogens for which an effective vaccine exists.

[†]A licensed vaccine is being tested for possible side effects.

SOURCE: Data derived from WHO publications.

اگر چه این ۱۰ بیماری شامل ایدز، سل و مالاریا نیز می‌شوند که هنوز واکسنی برای آنها در دسترس نمی‌باشد. ولی، تجویز واکسن‌هایی که برای نوزادان، در ایالات متحده توصیه شده می‌تواند مرگ‌و میر کودکان را تقریباً به نصف برساند.

چه موانعی در دستیابی به واکسیناسیون جهانی و ریشه‌کنی کامل بسیاری از بیماری‌های دوران کودکی وجود دارد؟ عدم دسترسی به سطوح بالاتر واکسیناسیون، حتی در ایالات متحده نشان دهنده سختی این‌کار می‌باشد. حتی اگر واکسن‌های مناسبی ایجاد شوند و مورد پذیرش جهانی قرار گیرند، توانایی تولید و توزیع آن در سراسر جهان یک چالش بزرگ محسوب می‌شود. سازمان بهداشت جهانی (WHO) اعلام کرده که یک واکسن مطلوب باید دارای ویژگی‌های زیر باشد:

- قابل خرید در سراسر جهان
- مقاوم به حرارت
- مؤثر بودن پس از یک دوز
- قابل استفاده برای تعدادی از بیماری‌ها

www.bbooks.ir

- قابل تجویز از راه مخاط
- مناسب برای تجویز در اوایل زندگی

تعداد کمی از واکسن‌هایی که امروزه به طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند همه این ویژگی‌ها را دارا می‌باشند. اهداف سازمان بهداشت جهانی می‌توانند ما را در پیگیری واکسن‌های مفید برای استفاده در سراسر جهان راهنمایی و همچنین در تعیین تقدم‌ها، خصوصاً برای تولید واکسن‌هایی که بیشتر در کشورهای درحال توسعه لازم می‌باشند، کمک نمایند. برای مثال، یک واکسن HIV/ ایدز که با معیارهای سازمان بهداشت جهانی مطابق باشد، می‌تواند به جمعیت‌هایی که در معرض خطر قرار دارند داده شود و اثر سریعی روی اپیدمی جهانی ایدز داشته باشد.

ایمونیزاسیون، جان میلیون‌ها نفر را نجات می‌دهد و واکسن‌های موجود به طور فزاینده‌ای در دسترس قرار می‌گیرند. چالش جامعه محققین مهندسی پزشکی تولید انواع بهتر، ارزان‌تر و ایمن‌تری از این واکسن‌ها می‌باشد به طوری که ایمونیزاسیون جهانی واقعیت یابد.

- ایمونیزاسیون فعال و غیرفعال

ایمنی نسبت به میکروارگانیسم‌های عفونی می‌تواند توسط ایمونیزاسیون فعال یا غیر فعال حاصل گردد. در هر دو مورد، ایمنی می‌تواند توسط فرآیندهای طبیعی (معمولاً در اثر عفونت قبلی با ارگانیسم یا بوسیله انتقال از مادر به جنین) یا بوسیله روش‌های مصنوعی مانند تزریق آنتی‌بادی‌ها یا واکسن‌ها بوجود آید (جدول ۱-۱۹).

www.bbooks.ir

TABLE 19-1 Acquisition of passive and active immunity

Type	Acquired through
Passive immunity	Natural maternal antibody
	Immune globulin*
	Humanized monoclonal antibody
	Antitoxin†
Active immunity	Natural infection
	Vaccines‡
	Attenuated organisms
	Inactivated organisms
	Purified microbial macromolecules
	Cloned microbial antigens
	Expressed as recombinant protein
	As cloned DNA alone or in virus vectors
	Multivalent complexes
	Toxoid§

*An antibody-containing solution derived from human blood, obtained by cold ethanol fractionation of large pools of plasma; available in intramuscular and intravenous preparations.

†An antibody derived from the serum of animals that have been stimulated with specific antigens.

‡A suspension of attenuated live or killed microorganisms, or antigenic portions of them, presented to a potential host to induce immunity and prevent disease.

§A bacterial toxin that has been modified to be nontoxic but retains the capacity to stimulate the formation of antitoxin.

عوامل مورد استفاده جهت القای ایمنی غیر فعال، شامل آنتی‌بادی‌های انسانی یا حیوانی می‌باشند، در حالی که ایمونیزاسیون فعال در اثر تلقیح پاتوژن‌هایی که ایمنی را القا کرده ولی موجب بیماری نمی‌شوند یا توسط ترکیبات آنتی‌ژنی پاتوژن‌ها ایجاد می‌گردد. در این بخش، کاربردهای رایج روش‌های ایمونیزاسیون فعال و غیر فعال را شرح می‌دهیم.

- ایمونیزاسیون غیر فعال شامل انتقال آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده می‌باشد

ادواردجنر و لویی پاستور به عنوان پیشگامان واکسیناسیون یا القای ایمنی فعال شناخته می‌شوند، ولی چنین معروفیتی برای امیل‌فون بهرینگ[1] و هیدسابورکیتازاتو[2] نیز برای تحقیقاتشان در زمینه ایمنی غیرفعال وجود دارد. این محققین اولین کسانی بودند که نشان

1- Emil Von Behring
2- Kitasato Hidesaburo

www.bbooks.ir

دادند ایمنی ایجاد شده در یک حیوان، می‌تواند در اثر تزریق سرم آن حیوان به حیوان دیگر انتقال یابد (تمرکز بالینی فصل ۴).

ایمونیزاسیون غیر فعال، که در آن آنتی‌بادی‌های پیش‌ساخته به یک گیرنده انتقال می‌یابد، به طور طبیعی در اثر انتقال آنتی‌بادی‌های مادری از جفت به جنین در حال رشد صورت می‌گیرد. آنتی‌بادی‌های مادری علیه دیفتری، کزاز، استرپتوکوک‌ها، سرخک، سرخچه، اوریون و فلج اطفال همگی موجب محافظت غیرفعال اکتسابی جنین در حال رشد می‌گردند. آنتی‌بادی‌های مادری موجود در کلستروم و شیر نیز ایمنی غیرفعال را برای نوزاد فراهم می‌آورند.

ایمونیزاسیون غیرفعال همچنین می‌تواند با تزریق آنتی‌بادی‌های پیش‌ساخته به گیرنده انجام شود. در گذشته، پیش‌از آنکه واکسن‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها در دسترس قرار گیرند، دفاع اصلی در برابر بیماری‌های عفونی مختلف، ایمن‌سازی غیرفعال بود. علیرغم خطرات ایجاد شده در اثر تزریق سرم حیوان (معمولاً سرم اسب)، این روش تنها درمان مؤثر بیماری‌های کشنده بود (فصل ۱۶). امروزه برخی شرایط لزوم استفاده از ایمونیزاسیون غیرفعال، موارد زیر می‌باشند:

- نقص در سنتز آنتی‌بادی در اثر نقایص مادرزادی یا اکتسابی سلول B که ممکن است به تنهایی یا با سایر نقایص سیستم ایمنی همراه باشد.
- قرار گرفتن در معرض یک بیماری که ممکن است مشکلات شدیدی ایجادکند(مثلاً کودک مبتلا به لوسمی که در معرض آبله مرغان یا سرخک قرار داشته باشد) یا هنگامی که پیشگیری مناسب توسط ایمونیزاسیون فعال، مجاز نباشد.
- عفونت با پاتوژن‌هایی که اثرات آنها توسط آنتی‌بادی بهبود یابد. مثلاً اگر افرادی ایمونیزاسیون فعال در برابر کزاز را به موقع دریافت نکرده باشند و دچار زخم عمیق شوند، آنتی‌سرم اسب علیه سم کزاز را دریافت می‌کنند. آنتی‌بادی پیش‌ساخته اسبی، سم تولید شده توسط کلستریدیوم تتانی راخنثی می‌کند.

www.bbooks.ir

ایمونیزاسیون غیرفعال به طور معمول برای افرادی که در معرض بوتولیسم، کزاز، دیفتری، هپاتیت، سرخک و هاری هستند، تجویز می‌گردد (جدول ۲-۱۹) و همچنین می‌تواند برای مسافران یا کارکنان بهداشتی که درمعرض ارگانیسم عفونی قرار می‌گیرند و فاقد ایمنی فعال نسبت به آن هستند، حفاظت فوری ایجاد کند. آنتی‌سرم تجویز شده به صورت غیر فعال، همچنین می‌تواند به منظور حفاظت در برابر نیش‌مار یا حشرات به کار رود. از آنجا که ایمونیزاسیون غیر فعال، سیستم ایمنی را فعال نمی‌کند، هیچ‌گونه خاطره‌ای در بدن ایجاد نشده و حفاظت فراهم شده گذرا می‌باشد.

TABLE 19-2 Common agents used for passive immunization

Disease	Agent
Black widow spider bite	Horse antivenin
Botulism	Horse antitoxin
Cytomegalovirus	Human polyclonal Ab
Diphtheria	Horse antitoxin
Hepatitis A and B	Pooled human immunoglobulin
Measles	Pooled human immunoglobulin
Rabies	Human or horse polyclonal Ab
Respiratory disease	Monoclonal anti-RSV*
Snake bite	Horse antivenin
Tetanus	Pooled human immunoglobulin or horse antitoxin
Varicella zoster virus	Human polyclonal Ab

*Respiratory syncytial virus
SOURCE: *Adapted from A. Casadevall, 1999, *Clinical Immunology* **93**:5.

برای برخی بیماری ها مثل نارسایی حاد تنفسی در کودکان که توسط RSV ایجاد می‌شود، بهترین راه پیشگیری، ایمونیزاسیون غیرفعال بوده که اغلب در دسترس می‌باشد. برای کودکانی که در معرض خطر RSV هستند، یک آنتی‌بادی منوکلونال یا ترکیبی از دو آنتی‌بادی منوکلونال تجویز می‌گردد. این آنتی‌بادی‌های منوکلونال درموش ساخته می‌شوند ولی در اثر اتصال ناحیه ثابت IgG انسانی به ناحیه متغیر ایمونوگلبولین موش، دارای خصوصیات انسانی می‌گردند (فصل ۵). این اصلاح، از بروز بسیاری از مشکلات احتمالی که

www.bbooks.ir

بدنبال تزریق دوم آنتی‌بادی موشی که یک پروتئین بیگانه با خاصیت ایمنی‌زایی بالاست پیش می‌آیند، جلوگیری می‌کند.

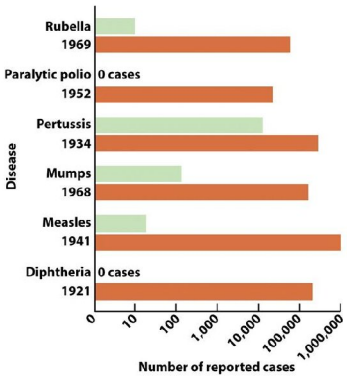
هر چند که ایمونیزاسیون غیرفعال می‌تواندیک درمان مؤثر باشد، ولی می‌بایست با احتیاط مورد استفاده قرار گیرد، زیرا خطراتی در ارتباط با تزریق آنتی‌بادی‌های پیش‌ساخته وجود دارند. در صورتی که آنتی‌بادی در گونه دیگری مانند اسب تولید شده باشد، گیرنده می‌تواند پاسخ شدیدی علیه شاخص‌های ایزوتایپی آنتی‌بادی بیگانه از خود نشان دهد. این پاسخ ضد ایزوتایپی می‌تواند مشکلات شدیدی ایجاد کند. مثلاً برخی افراد، علیه شاخص‌های آنتی‌بادی تزریقی، آنتی‌بادی از کلاس IgE تولید می‌کنند. مجموعه‌های ایمنی متشکل از IgE و آنتی‌بادی‌های تجویز شده می‌توانند موجب دگرانوله شدن عمومی ماست‌سل‌ها و در نتیجه بروز آنافیلاکسی گردند. سایر افراد، علیه آنتی‌بادی بیگانه، IgM و IgG تولید می‌کنند که مجموعه‌های ایمنی فعال‌کننده کمپلمان را ایجاد می‌کنند. رسوب این مجموعه‌های ایمنی دربافت، می‌تواند منجر به واکنش ازدیاد حساسیت نوع III گردد. حتی هنگامی که گاماگلبولین انسانی به طور غیر فعال تجویز شده باشد نیز، گیرنده می‌تواند علیه ایمونوگلبولین انسانی پاسخ ضد آلوتایپی دهد ولی معمولاً شدت آن بسیار کمتر از پاسخ ضد ایزوتایپی می‌باشد.

- ایمونیزاسیون فعال حفاظت طولانی مدت را فراهم می‌کند

در حقیقت هدف ایمونیزاسیون غیر فعال یک حفاظت گذرا و تسکین شرایط موجود بوده، در حالی که هدف ایمونیزاسیون فعال، حصول ایمنی محافظت کننده و خاطره ایمونولوژیک می‌باشد. هنگامی که ایمن‌سازی فعال با موفقیت انجام گیرد، مواجهه بعدی با عامل بیماری‌زا موجب شکل‌گیری پاسخ ایمنی شدیدتری می‌گردد که باعث حذف عامل بیماری‌زا و یا پیشگیری از بیماری در اثر محصولات آن خواهد شد. ایمونیزاسیون فعال یا به صورت

www.bbooks.ir

طبیعی با یک میکروارگانیسم یا به صورت مصنوعی با تجویز واکسن حاصل می‌شود(شکل ۱-۱۹).



شکل ۱-۱۹: شمار موارد سالانه گزارش شده سرخجه، پولیو، سیاه سرفه، اوریون، سرخک و دیفتری در ایالات متحده در مقایسه با موارد این بیماری ها در سال ۲۰۰۴. عموماً برای این بیماری ها واکسن وجود داشته و واکسیناسیون برای کودکان توصیه می شود.

در ایمونیزاسیون فعال، همان‌طور که از نامش پیداست سیستم ایمنی یک نقش فعال را ایفا می‌کند. تکثیر سلول‌های B و T واکنش دهنده با آنتی‌ژن منجر به تشکیل سلول‌های خاطره‌ای می‌گردد. ایمونیزاسیون فعال با انواع مختلف واکسن‌ها نقش مهمی در کاهش مرگ ومیر در اثر بیماری‌های عفونی، خصوصاً در کودکان ایفا می‌کند.

واکسیناسیون کودکان از دو ماهگی شروع می‌شود. برنامه پیشنهادی ایمونیزاسیون دوران کودکی درایالات متحده که در سال ۲۰۰۶ توسط آکادمی بیماری‌های کودکان آمریکا به روز شده به صورت خلاصه در جدول ۳-۱۹ آورده شده است.

www.bbooks.ir

TABLE 19-3 Recommended childhood immunization schedule in the United States, 2006

Vaccine*	Birth	1 month	2 months	4 months	6 months	12 months	15 months	18 months	24 months	4–6 years
Hepatitis B	•	←•→			←•→					
Diphtheria, tetanus, pertussis			•	•	•		←•→			•
Haemophilus influenzae type b			•	•	•	←•→				
Inactivated poliovirus			•	•	←•→					•
Measles, mumps rubella						←•→				•
Varicella						←•→				
Pneumococcal conjugate			•	•	•	←•→				
Influenza				(Yearly)	•	•	•	•	•	•
Hepatitis A				(Two doses at least 6 months apart)		←•→	←•→			

←•→ Arrows indicate time range during which an immunization is recommended

*This schedule indicates the recommended ages for routine administration of currently licensed childhood vaccines. Any dose not given at the recommended age should be given as a "catch-up" immunization at any subsequent visit.

SOURCE: Adapted from the CDC Web site; approved by the American Academy of Pediatrics.

این برنامه، واکسن‌های زیر را در بر می‌گیرد:

- واکسن هپاتیت B
- واکسن ترکیبی دیفتری – سیاه سرفه (فاقد سلول) – کزاز (DPT)
- واکسن هموفیلوس آنفولانزا (Hib)
- واکسن فلج اطفال غیر فعال شده (Salk) یا Ipv. استفاده از واکسن خوراکی فلج اطفال (sabin) دیگر در ایالات متحده توصیه نمی‌شود.
- واکسن ترکیبی سرخک – سرخجه – اوریون (MMR)
- واکسن واریسلازوستر (Var) برای آبله مرغان
- واکسن مننژیت (در ۲۴ ماهگی برای گروه‌های در معرض خطر و از ۱۱ تا ۱۲ سالگی برای تمام کودکان توصیه شده است)
- واکسن کونژوگه پنوموکوک (PCV)
- واکسن آنفولانزا (امروزه برای کودکان ۶ تا ۲۳ ماهه توصیه می‌شود)
- واکسن هپاتیت A

www.bbooks.ir

واکسن هپاتیت A امروزه برای تمام کودکان ۱۲ تا ۲۳ ماهه توصیه می‌شود، درحالی که در گذشته فقط برای نوزادان در جمعیت‌های در معرض خطر تجویز می‌شد. به طور مشابه، واکسن آنفولانزا در گذشته برای کودکانی که برخی عوامل خطر مثل آسم یا نقص ایمنی داشتند، توصیه می‌شد، ولی امروزه به علت خطر بالای آنفولانزای بیمارستانی، برای تمام کودکان سالم توصیه می‌شود.

معرفی و گسترش استفاده از واکسن‌های مختلف جهت ایمونیزاسیون کودکان، کاهش قابل ملاحظه‌ای در شیوع بیماری‌های معمول دوران کودکی که واکسن آنها در ایالات متحده به طور متداول توصیه شده، در پی داشته است. مقایسه شیوع بیماری‌ها در سال ۲۰۰۴ با آنچه که در سال‌های اوج بیماری گزارش شده است تفاوت قابل ملاحظه‌ای را در شیوع بیماری و در دو مورد، ریشه‌کنی کامل بیماری در ایالات متحده را نشان می‌دهد. تا زمانی که برنامه‌های جهانی ایمونیزاسیون مؤثر ادامه یابند، شیوع این بیماری‌های دوران کودکی نیز پایین می‌آیند. با این وجود، وقوع عوارض جانبی یک واکسن می‌تواند موجب افت مصرف آن و در نتیجه، ظهور مجدد بیماری گردد. برای مثال، عوارض جانبی واکسن باکتریایی تضعیف شده سیاه سرفه شامل تشنج، آنسفالیت، آسیب مغزی و حتی مرگ بودند. کاهش استفاده از واکسن موجب افزایش شیوع سیاه سرفه به میزان ۱۸۹۵۷ مورد در سال ۲۰۰۴ گردید. با تولید واکسن جدید فاقد سلول سیاه سرفه که به اندازه قبلی مؤثر می‌باشد، ولی فاقد عوارض جانبی است، انتظار می‌رود که این حالت برگردانده شود.

همان‌طور که در جدول ۳-۱۹ نشان داده شده است، به خصوص کودکان جهت دستیابی به یک ایمنی مؤثر، به چندین دوز تقویتی واکسن با فواصل زمانی مناسب، نیاز دارند. علت این امر در ماههای اول زندگی، حضور آنتی‌بادی‌های مادری در بدن نوزاد می‌باشد. مثلاً آنتی‌بادی‌های مادری به اپی‌توپ‌های واکسن DPT اتصال یافته و مانع فعال‌سازی سیستم ایمنی می‌گردند. بنابراین، جهت دستیابی به یک ایمنی مناسب، این واکسن می‌بایست پس از پاک‌شدن آنتی‌بادی‌های مادری از جریان خون نوزاد تجویز شود. آنتی‌بادی‌های مادری که

www.bbooks.ir

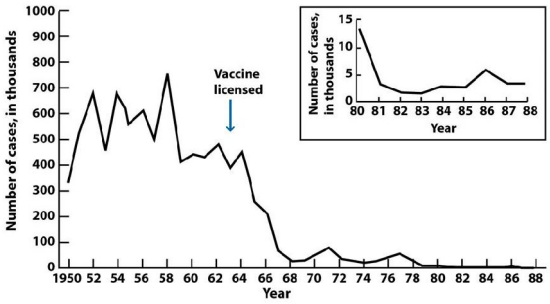
به طور غیر فعال کسب می‌شوند، در تأثیرگذاری واکسن سرخک نیز مداخله می‌کنند؛ به همین دلیل واکسن MMR قبل از ۱۲ تا ۱۵ ماهگی داده نمی‌شود. در کشورهای جهان سوم، واکسن سرخک در سن ۹ ماهگی که گمان می‌رود آنتی‌بادی‌های مادری هنوز حضور داشته باشند، تجویز می‌گردد، به همین دلیل ۳۰ تا ۵۰٪ کودکان در این کشورها قبل از سن ۱۵ ماهگی دچار بیماری می‌شوند. در مورد فلج اطفال به منظور اطمینان از این که پاسخ ایمنی مناسب علیه هر سه سوش پولیوویروس که واکسن را تشکل داده‌اند، ایجاد شده است به ایمونیزاسیون‌های متعددی نیاز می‌باشد.

توصیه‌های واکسیناسیون بالغین به گروههای در معرض خطر بستگی دارد. واکسن‌های مننژیت، پنومونی و آنفولانزا اغلب برای گروههایی که در اقامتگاههای بسته زندگی می‌کنند (مثل سربازان و دانشجویان جدیدالورود) و یا افرادی که ایمنی ضعیف شده‌ای دارند (مثل سالخوردگان) تجویز می‌گردند. مسافران بین‌المللی بسته به مقصدشان، به طور معمول علیه بیماری‌های آندمیک مثل وبا، تب زرد، طاعون، حصبه، هپاتیت، مننژیت، تیفوس و فلج اطفال ایمن می‌شوند. در گذشته، ایمونیزاسیون علیه بیماری مهلک سیاه زخم به افرادی که با حیوانات آلوده یا محصولات آنها تماس داشتند اختصاص یافته بود، ولی اخیراً، استفاده‌های مشکوک از اسپور سیاه‌زخم توسط تروریست‌ها یا در تسلیحات نظامی بیولوژیک، کاربرد واکسن را در پرسنل نظامی و افراد غیرنظامی ساکن در مناطقی که خطر حمله با این عوامل مرگبار وجود دارد، گسترش داده است.

واکسیناسیون ۱۰۰٪ مؤثر نمی‌باشد. در مورد هر واکسن درصد کمی از دریافت‌کنندگان پاسخ ضعیفی نشان خواهند داد و در نتیجه به طور مناسب محافظت نخواهند شد. در صورتی که اکثر افراد جامعه در برابر یک عامل عفونی ایمن باشند. این مسئله اهمیت زیادی نخواهد داشت. در این مورد، احتمال تماس فرد مستعد با فرد بیمار بسیار کم می‌باشد و احتمال عفونت شخص مستعد خیلی ضعیف خواهد بود. این پدیده با عنوان **ایمنی جمعی** شناخته می‌شود. ظهور اپیدمی‌های سرخک در میان دانشجویان و کودکان پیش‌دبستانی

www.bbooks.ir

واکسینه نشده در ایالات متحده در اواسط تا اواخر دهه ۱۹۸۰، بدلیل کاهش کلی واکسیناسیون که ایمنی جمعی را پایین آورده بود، دیده شد (شکل ۲-۱۹).



شکل ۲-۱۹: معرفی واکسن سرخک در سال ۱۹۶۲ منجر به کاهش چشمگیری در وقوع سالیانه این بیماری در ایالات متحده شد. شیوع پراکنده سرخک در دهه ۱۹۸۰ عمدتاً در بین نوجوانان واکسینه نشده و دانشجویان رخ داد.

در میان کودکان پیش‌دبستانی، ۸۸٪ افرادی که دچار سرخک شدند، واکسینه نشده بودند و اکثر دانشجویان مبتلا به سرحک نیز تنها یک بار و آن هم در دوران کودکی واکسن سرخک دریافت کرده بودند. شکست واکسیناسیون تک‌دوز در حفاظت این افراد احتمالاً بدلیل حضور آنتی‌بادی‌های مادری بود که به صورت غیر فعال دریافت کرده بودند و موجب کاهش پاسخ آنها به واکسن شده بود. افزایش وقوع بیماری سرخک موجب توصیه به ایمونیزاسیون دو مرحله‌ای کودکان با واکسن ترکیبی سرخک – سرخجه – اوریون، یکی در ۱۲ تا ۱۵ ماهگی و دیگری در ۴ تا ۶ سالگی گردید.

مرکز کنترل بیماری‌ها (CDC) خواستار توجه در کاهش میزان واکسیناسیون و ایمنی جمعی کودکان آمریکایی شده است. برای مثال، یک گزارش منتشر شده در سال ۱۹۹۵ نشان می‌داد که تقریباً $\frac{1}{3}$ کل نوزادان در کالیفرنیا واکسینه نشده بودند و نیمی از کودکان زیر دو سال نیز عقب‌تر از جدول زمان‌بندی واکسیناسیون خود قرار داشتند. چنین کاهشی در ایمنی جمعی موجب عواقب وخیمی می‌گردد که می‌توان به رویدادهای اخیری که در

www.bbooks.ir

ایالت‌های تازه استقلال یافته اتحاد جماهیر شوروی رخ داده اشاره کرد. در اواسط دهه ۱۹۹۰ اپیدمی دیفتری در بسیاری از مناطق این کشورهای جدید رخ داد که با کاهش ایمنی جمعی بدلیل کاهش میزان واکسیناسیون پس از فروپاشی اتحاد جماهیر شوروی ارتباط داشت. این اپیدمی که منجر به وقوع بیش از ۱۵۷۰۰۰ مورد دیفتری و ۵۰۰۰ مورد مرگ و میر گردید، هم‌اکنون با برنامه‌های ایمونیزاسیون گروهی تحت کنترل در آمده است.

- طراحی واکسن به منظور ایمونیزاسیون فعال

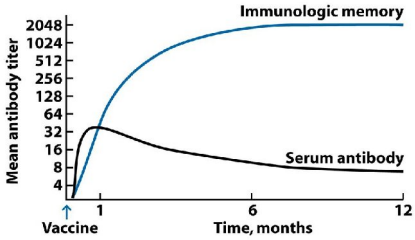
اکثر موارد عفونت، با مکانیسم‌های ایمنی ذاتی یا غیر اختصاصی شامل کمپلمان، اینترفرون‌ها، سلول‌های NK، فاگوسیت‌های فعال شده، ترکیبات ضد میکربی و سایرمکانیسم‌ها برطرف می‌شوند. پاسخ‌های اکتسابی، مقاومت قابل انعطاف‌تری نسبت به پاتوژن فراهم می‌کنند. واکسیناسیون، سیستم ایمنی اکتسابی را آموزش داده و آن را برای تأثیرگذاری مطلوب و سریع بر پاتوژن‌هایی که توسط ایمنی ذاتی به طور کامل حذف نشده‌اند آماده می‌سازد.

به منظور تولید یک واکسن موفق، می‌بایست چندین فاکتور در نظر گرفته شود. اول این که وجود پاسخ ایمنی قابل اندازه‌گیری لزوماً به معنی ایمنی محافظت کننده نمی‌باشد. نکته مهم این است که کدام شاخه سیستم ایمنی فعال می‌شود. بنابراین، طراحان واکسن باید اختلافات مهم بین فعالیت شاخه ایمنی هومورال و شاخه ایمنی سلولی را در نظر بگیرند. فاکتور دوم ایجاد خاطره ایمنی است. برای مثال، واکسنی که یک پاسخ حفاظت کننده اولیه ایجاد می‌کند، شاید در القای سلول‌های خاطره‌ای ناتوان باشد و بنابراین پس از پاسخ اولیه به واکسن، فرد را به صورت حفاظت نشده رها کند.

نقش سلول‌های خاطره‌ای در ایمنی، تا حدی به دوره کمون پاتوژن بستگی دارد. در مورد ویروس آنفولانزا که دوره کمون بسیار کوتاهی دارد (۱تا ۲ روز) علائم بیماری قبل از فعال شدن سلول‌های خاطره‌ای نمایان می‌شوند. بنابراین، حفاظت مؤثر در برابر آنفولانزا به بالا

www.bbooks.ir

نگه داشتن سطح آنتی‌بادی‌های خنثی کننده توسط تکرار ایمونیزاسیون،بستگی دارد؛ افراد درمعرض خطر هر سال ایمن سازی می‌شوند. در مورد پاتوژن‌هایی با دوره کمون طولانی‌تر، حفظ آنتی‌بادی خنثی کننده در زمان عفونت لازم نمی‌باشد. برای مثال، ویروس پولیو جهت عفونت سیستم اعصاب مرکزی به بیش از ۳ روز زمان نیاز دارد. این مدت دوره کمون، زمان لازم را برای تولید مقادیر بالای آنتی‌بادی به سلول‌های خاطره‌ای B می‌دهد. بنابراین، واکسن پولیو برای القای مقادیر بالای خاطره ایمنی طراحی شده است. پس از ایمونیزاسیون توسط واکسن سالک، میزان آنتی‌بادی سرم تا دو هفته به اوج خود رسیده وسپس کاهش می‌یابد. اما پاسخ خاطره‌ای به بالا رفتن ادامه می‌دهد و در مدت ۶ ماه به حداکثر مقدار خود رسیده و تا چند سال باقی می‌ماند (شکل ۳-۱۹).



شکل ۳-۱۹: ایمونیزاسیون تنها با یک دوز واکسن سالک پولیو موجب افزایش سریع میزان آنتی بادی می شود که پس از دو هفته به حداکثر خود رسیده و سپس کاهش می یابد.

در صورتی که فرد ایمن شده بعدها با ویروس پولیو مواجه شود، این سلول‌های خاطره‌ای با تمایز به پلاسماسل‌هایی که مقادیر بالای آنتی‌سرم تولید می‌کنند، به ویروس پاسخ داده و آنتی‌بادی‌های تولید شده موجب دفاع فرد در برابر اثرات ویروس می‌گردند.

در ادامه این فصل، دیدگاههای مختلف طراحی واکسن – هم واکسن‌های رایج و هم واکسن‌های آزمایشی – همراه با بررسی قابلیت آن در القای هومورال و سلولی و همچنین تولید سلول‌های خاطره‌ای شرح داده خواهد شد.

www.bbooks.ir

TABLE 19-4 Classification of common vaccines for humans

Vaccine type	Diseases	Advantages	Disadvantages
Live attenuated	Measles Mumps Polio (Sabin vaccine) Rotavirus Rubella Tuberculosis Varicella Yellow fever	Strong immune response; often lifelong immunity with few doses	Requires refrigerated storage; may mutate to virulent form
Inactivated or killed	Cholera Influenza Hepatitis A Plague Polio (Salk vaccine) Rabies	Stable; safer than live vaccines; refrigerated storage not required	Weaker immune response than live vaccines; booster shots usually required
Toxoid	Diphtheria Tetanus	Immune system becomes primed to recognize bacterial toxins	
Subunit (inactivated exotoxin)	Hepatitis B Pertussis Streptococcal pneumonia	Specific antigens lower the chance of adverse reactions	Difficult to develop
Conjugate	*Haemophilus influenzae* type B Streptococcal pneumonia	Primes infant immune systems to recognize certain bacteria	
DNA	In clinical testing	Strong humoral and cellular immune response; relatively inexpensive to manufacture	Not yet available
Recombinant vector	In clinical testing	Mimics natural infection, resulting in strong immune response	Not yet available

همان‌طور که در جدول ۴-۱۹ نشان داده شده است، واکسن‌های رایج کنونی شامل ارگانیسم‌های زنده ضعیف شده، سلول‌های باکتریایی کشته شده، ذرات ویروسی غیرفعال و قطعات پروتئینی یا کربوهیدراتی ارگانیسم هدف(زیز واحدها) می‌باشند. با مطالعات دقیق انجام شده، چندین نوع از واکسن‌های جدید در دسترس قرار گرفته‌اند که دارای مزایایی در زمینه حفاظت، تولید و حمل و نقل می‌باشند. مطالب زیر، خصوصیات اولیه و برخی از معایب و مزایای انواع مختلف واکسن‌ها را بیان می‌کنند. در قسمت بعد، انواع واکسن‌ها و چگونگی استفاده از آنها و همچنین بهترین روش استفاده از آنها به منظور مقابله با بیماری‌های انسانی بیان می‌گردد.

www.bbooks.ir

- واکسن‌های زنده ضعیف شده

در بعضی موارد، میکروارگانیسم‌ها می‌توانند تضعیف شوند و در نتیجه، بیماری‌زایی آنها از بین می‌رود و این در حالی است که آنها قادرند یک دوره رشد گذرا را در بدن میزبان تلقیح شده سپری کنند. مثال‌هایی از عواملی که بصورت طبیعی تضعیف شده و قادرند بدون ایجاد بیماری در بدن میزبان آن را ایمن سازند، وجود دارد. اولین مورد از واکسن‌های زنده ضعیف‌شده که توسط ادواردجنر مورد استفاده قرار گرفت، ویروس واکسینیا (آبله گاوی) بود که تلقیح آن به انسان موجب مصونیت در برابر آبله انسانی می‌گردید ولی این بیماری را ایجاد نمی‌کرد. تضعیف باکتری‌ها و ویروس‌های بیماری‌زا اغلب دراثر کشت طولانی مدت در شرایط غیرطبیعی صورت می‌گیرد.این روش موجب انتخاب موتانت‌هایی می‌شود که در شرایط کشت غیر طبیعی بهتر رشد کرده و بنابراین، توانایی کمتری برای رشد در میزبان طبیعی دارند. برای مثال، یک سوش تضعیف شده از مایکوباکتریوم بوویس بنام باسیل کالمت گورین [1](BCG) در اثر رشد مایکوباکتریوم بوویس در محیط کشت حاوی غلظت‌های افزایشی صفرا به دست می‌آید. پس از ۱۳ سال، این سوش با رشد در محیط‌های حاوی مقادیر بالای صفرا سازگار شده و به منظور استفاده به عنوان واکسن سل به اندازه کافی تضعیف گردید. این واکسن امروزه بدلیل میزان اثر بخشی متغیرش و همچنین مشکلات موجود در پیگیری افراد واکسینه شده، دیگر در ایالات متحده کاربرد ندارد. واکسن سابین فلج اطفال و واکسن سرخک، هر دو دارای سویه‌های تضعیف شده ویروس می‌باشند. ویروس پولیو مورد استفاده در واکسن سابین، در اثر رشد در سلول‌های اپی‌تلیال کلیه میمون ضعیف می‌گردد. واکسن سرخک حاوی سویه‌ای از ویروس روبلا است که ابتدا در سلول‌های جنین اردک و سپس در رده‌های سلولی انسانی رشد داده شده است.

1- Beacillud Colenette-Guerim

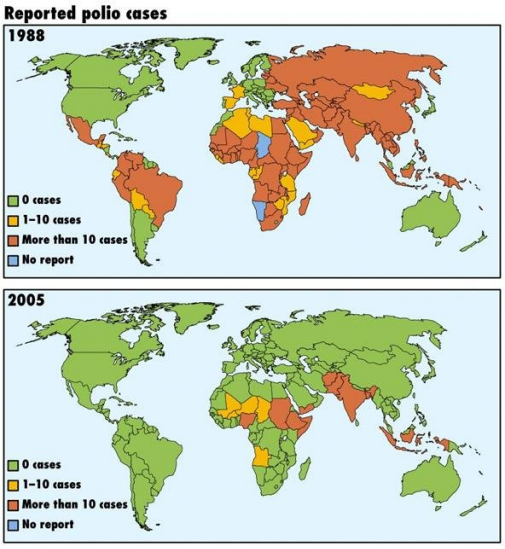
www.bbooks.ir

واکسن‌های زنده ضعیف شده دارای مزایا و معایبی می‌باشند. بـدلیل توانـایی رشـدگذرای میکروارگانیسم‌ها، این واکسن‌ها موجـب مواجهـه طـولانی‌مـدت سیسـتم ایمنـی میزبـان بـا اپی‌توپ‌های ارگانیسم ضعیف شده گردیده که منجر به افزایش ایمنی‌زایی و ایجاد سلول‌های خاطره‌ای خواهد شد. بنابراین، این نوع واکسن‌ها، اغلب بـه یـک مرتبـه ایمونیزاسـیون نیـاز دارند و احتیاج با دوزهای تقویت کننده تکراری مرتفع می‌گردد. این خاصیت ، یک مزیـت بزرگ در کشورهای جهان سوم محسوب مـی‌گـردد، زیـرا مطالعـات اپیـدمیولوژیک نشـان داده‌اند که بخش عمده‌ای از جمعیت این کشورها برای دریافت تقویـت کننـده‌هـای بعـدی مراجعه نمی‌کنند. توانایی بسیاری از این واکسن‌های ضعیف شده برای تکثیر در سـلول‌هـای میزبان، آنها را به منظور القای یک پاسخ ایمنی سلولی، کاملاً مناسب می‌سازد.

واکسن سابین فلج اطفال که حاوی سه سویه ضعیف شـده ویـروس پولیـو مـی‌باشـد، بـه صورت خوراکی در محلول‌های شـیرین یـا دریـک حبـه قنـد بـه کودکـان داده مـی‌شـود. ویروس‌های ضعیف شده در روده استقرار یافته و باعث ایجاد ایمنی حفاظتی علیـه هـر سـه سویه بیماریزای ویروس پولیو می‌شوند. واکسن موجب تولید IgA ترشحی در روده می‌گردد که خود به عنوان یک سد دفاعی مهم علیه ویروس پولیو به حساب مـی‌آیـد. ایـن واکسـن همچنین موجب القای آنتـی‌بـادی از کـلاس‌هـای IgG و IgM مـی‌گـردد. بـرخلاف اکثـر واکسن‌های ضعیف شده که به دوزهای تقویت کننده نیاز ندارند، واکسن سابین فلج اطفال به تقویت کننده نیاز داشته که دلیل آن، تداخل ویروسهای پولیوی موجود در واکسن در تکثیـر یکدیگر در سلول‌های روده‌ای می‌باشند. با اولین ایمونیزاسیون، رشد یکی ازسویه‌هـا بـر بقیـه غلبه کرده که موجب القای ایمنی علیه همان سویه می‌گـردد. در ایمونیزاسـیون دوم، ایمنـی ایجاد شده علیه سویه قبلی، رشد آن را مهار می‌کند و موجب غلبه رشـد یکـی از دو سـویه باقی مانده می‌گردد. نهایتاً با ایمونیزاسیون سوم، ایمنی علیه هر سه سویه موجود در واکسن، بدست می‌آید.

www.bbooks.ir

یک اشکال عمده در واکسن‌های ضعیف‌شده، احتمال تبدیل آنها به فرم بیماریزا می‌باشد. در واکسن سابین فلج اطفال (OPV) میزان این بازگشت که به فلج نیز می‌انجامد، ۱ مورد در ۲/۴ میلیون دوز واکسن می‌باشد. این تبدیل نشان می‌دهد که اشکال بیماری‌زای ویروس وارد بدن برخی از افراد ایمن شده گردیده و خصوصاً در مناطقی که فاقد استانداردهای دقیق بهداشتی بوده یا مناطقی که فاضلاب وارد چرخه آب می‌گردد، به مخازن آب راه می‌یابند. این موضوع،منجر به استفاده انحصاری از واکسن‌های غیرفعال شده فلج اطفال در این کشورها گردیده است(جدول ۳-۱۹). تا زمانی که در هر نقطه از دنیا، واکسن سابین مورد استفاده قرار گیرد،ریشه‌کنی فلج اطفال امکان‌پذیر نخواهد بود(شکل ۴-۱۹).



شکل ۴-۱۹: پیشرفت در ریشه کنی جهانی فلج اطفال. مقایسه موارد عفونت در سال ۱۹۸۸و سال ۲۰۰۵، پیشرفت قابل توجهی را در اکثر نقاط جهان نشان می دهد. هرچند که در برخی مناطق آسیا و آفریقا این گونه نمی باشد.

با افزایش تعداد موارد بیماری، احتمالاً واکسن سالک جایگزین خواهد شد. با این وجود، مشکلاتی در توزیع این واکسن در کشورهای در حال توسعه وجود دارد. هدف نهایی

www.bbooks.ir

ریشه‌کنی به طور مشخص، رسیدن به دنیای بدون فلج اطفال بوده که به هیچ واکسنی نیاز نباشد.

واکسن‌های ضعیف شده همچنین می‌توانند دارای مشکلاتی مشابه با آنچه در بیماری‌های طبیعی دیده می‌شود،باشند. برای مثال، درصد کمی از افرادی که واکسن سرخک دریافت می‌کنند، دچار آنسفالیت پس از واکسیناسیون یا سایر درگیری‌ها می‌شوند.

TABLE 19-5 Risk of complications from natural measles infection compared with known risks of vaccination with a live attenuated virus in immunocompetent individuals

Complication	Risk after natural disease*	Risk after vaccination†
Otitis media	7%–9%	0
Pneumonia	1%–6%	0
Diarrhea	66%	0
Post-infectious encephalomyelitis	0.5–1 per 1000	1 per 1,000,000
SSPE	1 per 100,000	0
Thrombocytopenia	—‡	1 per 30,000§
Death	0.1–1 per 1000 (up to 5%–15% in developing countries)	0

*Risk after natural measles are calculated in terms of events per number of cases.

†Risks after vaccination are calculated in terms of events per number of doses.

‡Although there have been several reports of thrombocytopenia occurring after measles, including bleeding, the risk has not been properly quantified.

§This risk has been reported after MMR vaccination and cannot be attributed only to the measles component.

MMR = measles, mumps, and rubella.

SSPE = subacute sclerosing panencephalitis.

همان‌طور که در جدول ۵-۱۹ نشان داده شده، خطر درگیری‌های مرتبط با واکسیناسیون، به مراتب کمتر از خطر عفونت می‌باشد. در مطالعه‌ای نشان داده شد که از ۷۵ میلیون دوز واکسن سرخکی که بین سال‌های ۱۹۷۰ تا ۱۹۹۳ تجویز شده، ۴۸ مورد به آنسفالیت پس از واکسیناسیون منجر شده است. شیوع پایین این اثر جانبی در مقایسه با میزان آنسفالوپاتی مرتبط با عفونت، نشانه کارآیی واکسن است. دلیل متقاعد کننده‌تر واکسیناسیون، میزان بالای مرگ و میر در اثر عفونت سرخک حتی در کشورهای توسعه یافته می‌باشد.

تکنیک های مهندسی ژنتیک با حذف انتخابی ژن‌های لازم برای بیماریزایی یا ژن‌های لازم جهت رشد در واکسن، مسیر برگشت ناپذیری را برای تضعیف ویروس‌ها فراهم کرده‌اند. این روش در مورد یک واکسن هرپس ویروس برای خوک به انجام رسیده است که در آن ژن تیمیدین کیناز حذف گردیده است. بدلیل این که تیمیدین کیناز برای رشد

www.bbooks.ir

ویروس‌ها در انواع مختلف سلولی (مثل سلول‌های عصبی) لازم می‌باشد، حذف این ژن، موجب ناتوانی ویروس در ایجاد بیماری می‌شود.

اخیراً یک واکسن زنده ضعیف شده تولید گشته و تحت عنوان FluMist مجوز دریافت کرده است. مراحل ضعیف‌سازی شامل رشد ویروس در دمانی پایینتر از دمایی طبیعی بوده تا این که سویه سازگار با سرما بدست آید. این سویه ویروس آنفولانزا در دمای کمتر از ۳۷° سانتی‌گراد رشد کرده ولی در دمای ۳۷° بدن انسان قادر به رشد نمی‌باشد. این ویروس زنده ضعیف‌شده به صورت استنشاقی تجویز می‌گردد و یک عفونت گذرا در دستگاه تنفسی فوقانی ایجاد می‌کند که این عفونت برای القای پاسخ ایمنی، کافی می‌باشد. این ویروس به علت عدم توانایی در رشد در دماهای بالاتر داخل بدن، در محدوده خود که همان دستگاه تنفسی فوقانی است باقی می‌ماند. بدلیل سادگی تجویز و القای ایمنی مخاطی مناسب، به زودی واکسن آنفولانزای سازگار با سرما به صورت غالب مورد استفاده قرار می‌گیرد.

- واکسن‌های غیرفعال یا کشته شده

روش معمول دیگر جهت تضعیف باکتری‌ها، غیر فعال کردن آنها توسط حرارت یا مواد شیمیایی می‌باشد. در نیتجه، پاتوژن قادر به القای پاسخ ایمنی می‌باشد ولی توانایی تکثیر در میزبان را از دست می‌دهد. این نکته از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد که در طول غیرفعال کردن پاتوژن، ساختار اپی‌توپ‌های آنتی‌ژنی آن حفظ شوند. معمولاً غیر فعال کردن توسط حرارت، رضایت‌بخش نمی‌باشد زیرا دناتوره شدن گسترده پروتئین‌ها را در پی دارد. بنابراین، اپی‌توپ‌هایی که به ساختمان پروتئین وابسته‌اند، تغییر می‌یابند. عمل غیرفعال‌سازی شیمیایی توسط فرمالدئید یا عوامل آلکیله کننده مختلف با موفقیت همراه بوده است. واکسن سالک فلج اطفال در اثر غیرفعال‌سازی با فرمالدئید تولید می‌شود. واکسن‌های زنده ضعیف شده به منظور القای ایمنی طولانی مدت، عموماً به یک دوز نیاز دارند، اما برخلاف آنها،

www.bbooks.ir

واکسن‌های کشته شده به تقویت کننده‌های تکراری نیاز دارند. علاوه بر آن، واکسن‌های کشته شده غالباً پاسخ‌های آنتی‌بادی هومورال را بر می‌انگیزند؛ این واکسن‌ها در القای ایمنی سلولی و پاسخ IgA ترشحی نسبت به واکسن‌های ضعیف شده تأثیر کمتری دارند.

حتی با وجودی که پاتوژن‌های درون واکسن، کشته شده‌اند، ولی بازهم واکسن‌های غیرفعال شده حاوی ارگانیسم کامل، خطراتی به همراه دارند. در واکسن های اولیه سالک، هنگامی که فرمالوئید در کشتن تمامی ویروس‌ها در دوسری از واکسن‌های تولیدی موفق نبود، مشکلات جدی به وجود آمد و درصد بالایی از دریافت‌کنندگان واکسن به فلج اطفال دچار شدند. بنابراین، تولید واکسن‌های کشته شده نیز با خطراتی همراه می‌باشد. قبل از غیر فعال‌سازی، مقادیر بالایی از عوامل عفونی به کار گرفته می‌شوند و افرادی که با روندهای غیرفعال‌سازی سروکار دارند در معرض عفونت می‌باشند. گزارشاتی مبنی بر عفونت افرادی که در تولید واکسن سالک شرکت داشتند، دردست می‌باشد.

به طور کلی واکسن‌های غیرفعال شده نسبت به واکسن‌های زنده ضعیف شده که قابلیت تکثیر و احتمالاً برگشت به حالت فعال خود را حفظ کرده‌اند، از ایمنی بیشتری برخوردار می‌باشند. واکسن‌های غیرفعالی که کاربرد معمول دارند شامل واکسن‌های علیه بیماری‌های باکتریایی و ویروسی می‌باشند. واکسن آنفولانزا همراه با واکسن‌های هپاتیت A و وبا از این نوع می‌باشند. منافع واکسن‌های غیرفعال، علاوه بر ایمنی نسبی، شامل پایداری، سهولت نگهداری و حمل و نقل آسان آنها می‌باشد. از آنجا که کاربرد اکثر واکسن های غیرفعال به صورت تزریق می‌باشد،ایمونیزاسیون‌های گروهی با آنها مشکل می‌باشد.

- واکسن‌های زیر واحد

بسیاری از خطرات همراه با واکسن‌های ضعیف شده یا کاملاً کشته شده، در این نوع از واکسن‌ها که حاوی ماکرومولکول‌های خالص مشتق شده از پاتوژن می‌باشند، وجود ندارد. سه فرم از این واکسن‌ها که اجزا یا زیرواحدهای پاتوژن را در بردارند شامل: اگزوتوکسین‌ها یا

www.bbooks.ir

توکسوئیدهای غیرفعال شده، پلی‌ساکاریدهای کپسولی و آنتی‌ژن‌های پروتئین نوترکیب هستند.

- توکسوئیدها به عنوان واکسن مورد استفاده قرار می‌گیرند

برخی از پاتوژن‌های باکتریایی مثل عوامل ایجاد کننده دیفتری و کزاز ، اگزوتوکسین هایی تولید می‌کنند که عامل اکثر علائم بیماری می‌باشند. واکسن‌های دیفتری و کزاز با تکنیک‌های خالص‌سازی اگزوتوکسین‌های آنها و سپس غیرفعال‌سازی آنها توسط فرمالدئید و تبدیل آنها به توکسوئید بدست می‌آیند. واکسیناسیون با توکسوئید موجب تولید آنتی‌بادی علیه آنها گردیده که با اتصال به سم باعث خنثی‌سازی اثرات آن می‌شود. شرایط تولید واکسن‌های توکسوئیدی باید کاملاً کنترل شده باشد تا از تغییرات بیش از اندازه در ساختمان اپی‌توپ‌های توکسوئید جلوگیری شود و در عین حال، عملیات سم‌زدایی نیز به طور کامل انجام گیرد. دستیابی به مقادیر کافی توکسین خالص به منظور تهیه واکسن، توسط کلون‌کردن ژن‌های اگزوتوکسین و بیان آنها در سلول‌های میزبان آسان رشد،صورت می‌گیرد.

ایمنی غیر فعال در برابر توکسین‌ها را می‌توان با تزریق سرم حاوی آنتی‌بادی‌های ضد توکسوئید ایجاد نمود. همان‌طور که در فصل ۱ بحث کردیم، قبل از دسترس قرار گرفتن آنتی‌بیوتیک‌ها (یا تولید واکسن‌های مؤثر) درمان دیفتری با تجویز آنتی‌توکسین‌هایی که معمولاً در اسب ایجاد می‌شدند، انجام می‌شد. به همین صورت می‌توان با تجویز آنتی‌توکسین کزاز به افرادی که با این میکرب برخورد داشته‌اند، از بیماری کزاز پیشگیری به عمل آورد. بیماری بوتولیسم با آنتی‌توکسین اسبی درمان می‌شود، اما تاکنون هیچ واکسن توکسوئیدی علیه بوتولیسم در انسان ساخته نشده است.

www.bbooks.ir

- کپسول‌های پلی‌ساکاریدی باکتری‌ها به عنوان واکسن مورد استفاده قرار می‌گیرند

بیماریزایی برخی از باکتری‌ها اساساً به خصوصیت ضدفاگوسیتی کپسول‌های پلی‌ساکاریدی و آبدوست آنها بستگی دارد. پوشانده‌شدن سطح کپسول با آنتی‌بادی و/یا کمپلمان موجب افزایش توانایی ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها در فاگوستیوز چنین پاتوژن‌هایی می‌گردد. این یافته‌ها اساس منطقی واکسن‌های حاوی پلی‌ساکاریدهای کپسولی خالص شده را فراهم می‌آورند. واکسن موجود علیه استرپتوکوک پنومونیه که عامل پنومونی پنوموکوکی است حاوی ۲۳ پلی‌ساکارید کپسولی مختلف می‌باشد. این واکسن باعث تشکیل آنتی‌بادی‌های اپسونیزه‌کننده می‌گردد و هم‌اکنون در لیست واکسن‌های توصیه شده برای تمام نوزادان قرار دارد. واکسن نایسریامننژیتیدیس که عامل مننژیت باکتریایی می‌باشد نیز حاوی پلی‌ساکاریدهای کپسولی خالص شده می‌باشد.

- گلیکوپروتئین‌های ویروسی کاندیدای واکسن می‌باشند

اگرچه زیرواحدهای گلیکوپروتئینی برخی ویروس‌ها مثل پوشش HIV-1 به عنوان واکسن با موفقیت کمی همراه بوده‌اند، ولی کماکان امید می‌رود که این گلیکوپروتئین‌ها بتوانند علیه بعضی بیماری‌ها محافظت ایجاد کنند. در یک مطالعه بالینی که اخیراً انجام شده، استفاده از گلیکوپروتئین D ویروس هرپس سیمپلکس نوع II در برخی از دریافت کنندگان واکسن، از هرپس تناسلی جلوگیری کرده است. این واکسن گلیکوپروتئینی همراه با یک ادجوانت به مردان و زنان داوطلبی که قبل از دریافت واکسن از نظر آنتی‌بادی سرمی علیه HSV نوع I و II مورد آزمایش قرار گرفته بودند، داده شد. افراد منتخب برای واکسیناسیون، کسانی بودند که از نظر آنتی‌بادی HSV نوع II منفی بودند و شریک جنسی مشخص و همچنین سابقه هرپس تناسلی داشتند. واکسن به کار رفته، در جلوگیری از هرپس تناسلی در زنانی که از نظر آنتی‌بادی سرمی علیه HSV نوع Iو II منفی بودند مؤثر بود ولی در افرادی که

www.bbooks.ir

HSV نوع I (که ضایعات دهانی و نه تناسلی می‌دهد) آنها مثبت بود، محافظت کمی ایجاد می‌کرد. هیچ‌گونه اثر محافظتی در گروه مردان دارای آنتی‌بادی ضد HSV و یا فاقد آن، مشاهده نگردید.

- پروتئین‌های پاتوژن‌ها توسط تکنیک‌های نوترکیبی تولید می‌شوند

از نظر تئوریک، ژن‌های کد کننده هر پروئتین می‌توانند توسط تکنیک‌های نوترکیبی در باکتری‌ها، مخمرها و یا سلول‌های پستانداران کلون و بیان شوند. تعدادی از ژن‌های کد کننده آنتی‌ژن‌های سطحی ویروس‌ها، باکتری‌ها و پاتوژن‌های تک یاخته‌ای به طور موفقیت‌آمیزی در سیستم‌های بیان سلولی، کلون شده و آنتی‌ژن‌های بیان شده به عنوان واکسن مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اولین واکسن نوترکیب که جهت استفاده در انسان مجوز گرفت،واکسن هپاتیت B بود که با کلون کردن ژن آنتی‌ژن اصلی سطح ویروس هپاتیت B (HBsAg) و بیان آن در سلول‌های مخمر به دست آمد. سلول‌های مخمر نوترکیب، در دستگاههای تخمیر بزرگ رشد می‌کنند و به HBsAg اجازه می‌دهند تا در سلول‌های افرایش یابند. با جمع‌آوری و تخریب سلول‌های مخمر، HBsAg نوترکیب، آزاد می‌گردد و سپس این آنتی‌ژن‌ها توسط روش‌های بیوشیمیایی مرسوم، تخلیص می‌گردند. نشان داده شده که واکسن‌های نوترکیب هپاتیت B، باعث تولید آنتی‌بادی‌های محافظت کننده گشته و نویدبخش ۲۵۰ میلیون ناقل هپاتیت B در سراسر جهان می‌باشند.

بسیاری از واکسن‌هایی که برای بیماری‌های مهمی نظیر مالاریا طراحی شده‌اند، حاوی یک یا چند پروتئین عامل بیماریزا می‌باشند. این پروتئین‌ها با استفاده از رده‌های سلولی مناسب، در مقادیر بالا ساخته شده و سپس توسط عملیاتی با ممانعت از آلودگی محصول، خالص‌سازی می‌شوند. یک مشکل اساسی، افزایش دادن پاسخ‌های ایمنی محافظت کننده علیه این پروتئین‌ها می‌باشد. ادجوانت‌های خاصی مثل آلوم جهت مصرف در انسان مجوز گرفته‌اند ولی اشکال مؤثر مثل ادجوانت کامل یا ناقص فروند، عوارض جانبی غیرقابل قبولی دارند.

www.bbooks.ir

یکی از بسترهای تحقیقاتی اخیر، یافتن ترکیبات مناسب به عنوان ادجوانت‌های قوی و بی‌ضرر برای افراد واکسینه می‌باشد. از میان ترکیبات کاندید شده، می‌توان به آنهایی اشاره کرد که از طریق پذیرنده‌های شبه Toll، سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها را فعال می‌کنند. این نوع فعال‌سازی سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی، موجب پاسخ‌هایی می‌گردند که سیستم ایمنی اکتسابی را نیز فعال می‌کنند. از میان موادی که برای آثار ادجوانتی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند، می‌توان به اولیگونوکلئوتیدی‌ها با توالی $(CpG)_n$ [یک موتیف شایع در باکتری‌ها] و اجزایی از دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی مثل LPS، اشاره کرد.

- استفاده از پروتئین‌های سنتتیک به عنوان واکسن، پیشرفت کندی داشته است

در صورتی زیرواحدهای پروتئینی می‌توانند به عنوان واکسن‌های موفق به کاربرده شوند، که بتوانیم فعال‌ترین اپی‌توپ‌های آنها را تعیین کرده، پپتیدهای مصنوعی تقلید کنندهٔ این اپی‌توپ‌ها را ساخته و سپس این پپتیدها را به عنوان واکسن به کار بریم. مزایای این گونه واکسن‌ها شامل سهولت سنتز تحت شرایط کنترل شده و همچنین تولید کاملاً ایمن آنها می‌باشد. برخلاف آینده بسیار نوید بخش این واکسن‌ها، استفاده از پپتیدهای سنتتیک به عنوان واکسن، به صورتی که انتظار می‌رفت، پیشرفت نداشته است. پپتیدها به اندازه پروتئین‌ها ایمونوژنیک نبوده و ایجاد ایمنی سلولی و هومورال توسط آنها مشکل می‌باشد. استفاده از کونژوگه‌ها و ادجوانت‌ها در بالا بردن ایمنی محافظت کننده به پپتیدها کمک می‌کند، ولی موانعی بر سر راه استفاده جهانی واکسن‌های پپتیدی وجود دارد.

- واکسن‌های کونژوگه

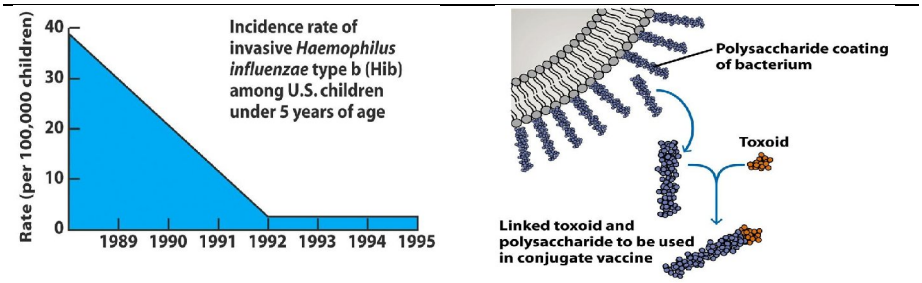
یکی از محدودیت‌های واکسن‌های پلی‌ساکاریدی، عدم توانایی آنها در فعال‌کردن سلول‌های T_H می‌باشد. این واکسن‌ها سلول‌های B را به صورت مستقل از تیموس نوع دو (TI-2) فعال می‌کنند که منجر به تولید IgM شده ولی تغییر کلاس به میزان کمی صورت می‌گیرد و

www.bbooks.ir

افزایش میل ترکیبی نیز دیده نمی‌شود. تعداد زیادی از محققین، القای پلاسماسل‌های ترشح کننده IgA را در افرادی که واکسن پلی‌ساکاریدی پنوموکوک را به صورت زیرپوستی دریافت کرده بودند،گزارش کرده‌اند. در این موارد که سلول‌های T_H در پاسخ ایمنی دخالت ندارند، واکسن ممکن است سلول‌های خاطره‌ای B اختصاصی IgA را که قبلاً در اثر آنتی‌ژن‌های باکتریایی در سطوح مخاطی تولید شده‌اند را فعال نماید. از آنجا که این باکتری‌ها هم دارای اپی‌توپ‌های پلی‌ساکاریدی و هم اپی‌توپ‌های پروتئینی هستند، می‌توانند سلول‌هایT_H را که قادر به تغییر کلاس آنتی‌بادی و تشکیل سلول‌های خاطره‌ای هستند، فعال کنند.

یک راه جهت دخالت مستقیم سلول‌های T_H در پاسخ به آنتی‌ژن‌های پلی ساکاریدی، کونژوگه کردن آنتی‌ژن با انواعی از حامل‌های پروتئینی می‌باشد. مثلاً واکسن هموفیلوس آنفولانزای نوع b (Hib) که عامل عمده مننژیت باکتریایی در کودکان کمتر از ۵ سال می‌باشد، شامل پلی‌ساکارید کپسول نوع b است که به صورت کووالان به یک پروتئین حامل، یعنی توکسوئید کزاز اتصال یافته است(شکل ۵a-۱۹). کونژوگه پلی‌ساکارید- پروتئین به مقدار قابل توجهی ایمنی‌زاتر از پلی‌ساکارید تنها می‌باشد و به علت فعال کردن سلول‌های T_H قادر به تغییر کلاس از IgM به IgG می‌باشند. با وجودی که این نوع واکسن‌ها می‌توانند سلول‌های Bخاطره‌ای ایجاد نمایند، قادر به القای سلول‌های Tخاطره‌ای اختصاصی نمی‌باشند. در مورد واکسن Hib مشخص شده که سلول‌های Bخاطره‌ای می‌توانند در غیاب سلول‌های T_H خاطره‌های تا اندازه‌ای فعال شوند، که توجیه کننده کارایی این واکسن می‌باشد. عفونت Hib می‌تواند منجر به ناشنوایی و نقایص عصبی گردد. ارزش این واکسن‌ها در کشورهایی با پوشش گسترده بیماری که واکسن‌های کونژوگه استفاده می‌شود، دیده می‌شود. کاهش سریع موارد Hib در ایالات متحده در شکل ۵b-۱۹ نشان داده شده است.

www.bbooks.ir



شکل ۵-۱۹: یک واکسن کونژوگه موجب حفاظت علیه هموفیلوس آنفولانزا نوع B (Hib) می شود. (راست) این واکسن از ترکیب پلی ساکارید سطحی Hib با یک مولکول پروتئین ساخته شد. (چپ) به علت ورود این واکسن در ایالات متحده میزان Hib مهاجم به طور قابل توجهی کاهش یافت.

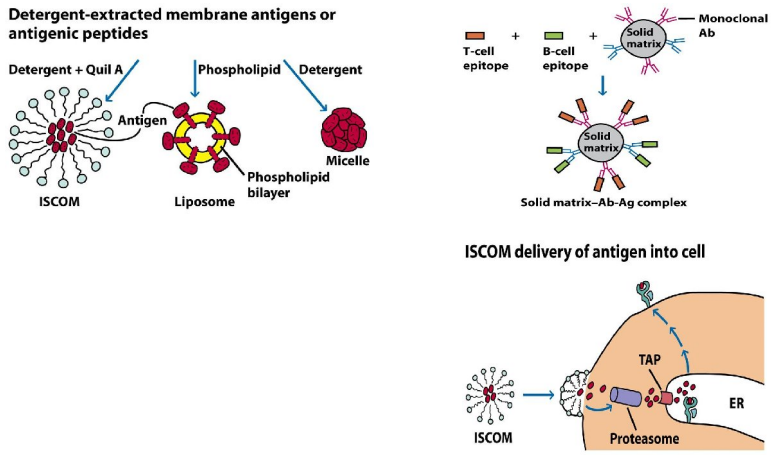
- یک نوع پلی‌ساکارید در برابر چندین نوع قارچ محافظت ایجاد می‌کند

در مطالعه‌ای که بر روی اثر ترکیبات پلی‌ساکاریدی قارچ‌ها در حیوانات انجام گرفته نتایج امیدبخشی در مورد واکسن‌های کونژوگه بدست آمده است. ایمونیزاسیون با کونژوگه β گلوکان جدا شده از جلبک قهوه‌ای و توکسوئید دیفتری موجب افزایش آنتی‌بادی در موش و رت گردیده و آنها را در برابر آسپرژیلوس فومیگاتوس و کاندیداآلبیکنس محافظت می‌کند. حفاظت ایجاد شده در اثر انتقال سرم یا مایع واژینال از حیوان ایمن شده نشان می‌دهد که این ایمنی براساس آنتی‌بادی می‌باشد. این نتایج با تولید آنتی‌بادی منوکلونال علیه β گلوکان و مشاهده اثر حفاظتی آن، مورد تأیید قرار گرفتند. عفونت با پاتوژن‌های قارچی، مشکلاتی جدی برای افراد دچار نقص ایمنی محسوب می‌شوند و ایمونیزاسیون یا درمان با آنتی‌بادی، بر مشکلات ناشی از سمیت داروهای ضدقارچی غلبه خواهند کرد ضمن این که به جلوگیری از بروز سویه‌های مقاوم که نکته‌ای بسیار مهم در مسائل بیمارستانی است کمک می‌کند.

www.bbooks.ir

- واکسن‌های زیرواحدی چند ظرفیتی موجب ایمنی سلولی و هومورال می‌شوند

یکی از محدودیت‌های واکسن‌های پپتیدی مصنوعی و واکسن‌های زیر واحدی پلی‌سارکاریدی یا پروتئینی ایمنی‌زایی ضعیف آنها می‌باشد. همچنین این واکسن‌ها بیشتر پاسخ آنتی‌بادی را فعال می‌کنند و کمتر به ایمنی سلولی می‌پردازند. بنابراین یکی از نیازهای ما راهی جهت ساختن واکسن‌های پپتیدی مصنوعی است که دارای اپی‌توپ‌های غالب برای سلول‌های B و سلول‌های T باشند. همچنین اگر هدف ما یک نوع پاسخ T سایتوتوکسیک باشد، باید واکسن به صورت درون سلولی داده شود تا پپتیدها توانایی پردازش شدن و ارائه توسط مولکول‌های MHC کلاس I را داشته باشند. تکنیک‌های ابداعی برای به دست آوردن واکسن‌های چند ظرفیتی که توانایی بروز چندین کپی از یک پپتید یا مخلوطی از پپتیدها را به سیستم ایمنی داشته باشند، به دست آمده‌اند (شکل ۶-۱۹).



شکل ۶-۱۹: واکسن های زیرواحد مولتی والان. (راست بالا) مجموعه های آنتی ژن – آنتی بادی – ماتریکس فاز جامد را می توان به گونه ای طراحی نمود که پپتیدها به هر دو سلول B و T عرضه شوند. (چپ بالا) میسل ها و لیپوزوم های پروتئینی و مجموعه های محرک ایمنی (ISCOMs) را می توان با آنتی ژن های استخراج شده و یا پپتید های آنتی ژنی تهیه کرد. (پایین) ISCOM ها و لیپوزوم ها می توانند آنتی ژن ها را به سلول ها انتقال دهند؛ به گونه ای که از آنتی ژن های با منشأ داخلی تقلید کنند. پردازش از طریق مسیر سیتوزولی و عرضه همراه با مولکول های MHC-I موجب یک پاسخ سلولی می شود.

www.bbooks.ir

یک روش، اتصال آنتی‌بادی‌های منوکلونال به ماتریکس‌های ذره‌ای جامد و سپس اشباع آنتی‌بادی‌ها با آنتی‌ژن مورد نظر جهت ساختن مجموعه‌های ماتریکس- آنتی‌بادی- آنتی‌ژن (SMAA) و کاربرد این مجموعه‌ها به عنوان واکسن می‌باشد. با اتصال چندین نوع آنتی‌بادی منوکلونال به ماتریکس، امکان اتصال مخلوطی از پپتیدها یا پروتئین‌هاکه حاوی اپی‌توپ‌های غالب، هم برای سلول‌های B و هم سلول‌های T می‌باشند، به ماتریکس جامد فراهم می‌شود (شکل ۶a-۱۹). نشان داده شده که این مجموعه‌های چندظرفیتی توانایی القای پاسخ‌های قدرتمند ایمنی سلولی و هومورال را دارند. طبیعت ذره‌ای آنها با تسهیل فاگوستیوز توسط سلول‌های فاگوسیتی، موجب افزایش ایمنی زایی آنها می‌گردد.

یک روش دیگر جهت تولید واکسن‌های چندظرفیتی، استفاده از دترجنت جهت به کارگیری آنتی‌ژن‌های پروتئینی در میسل‌های پروتئینی، وزیکول‌های لیپیدی (لیپوزوم) یا مجموعه‌های محرک ایمنی می‌باشد (شکل ۶b-۱۹). مخلوط کردن پروتئین‌ها با دترجنت و سپس برداشت دترجنت موجب تشکیل میسل‌ها می‌شود. در میسل‌حاصل، پروتئین‌ها طوری جهت‌گیری می‌کنند که سرهای آبدوست آنها به سمت محیط آبی و بخش‌های آبگریزشان به سمت مرکز و دور از محیط قرار گیرند. لیپوزوم‌های حاوی آنتی‌ژن پروتئینی، از مخلوط کردن پروتئین‌ها با یک سوسپانسیون فسفولیپیدی در شرایطی که وزیکول‌های دو لایه لیپیدی تشکیل شوند، ایجاد می‌گردند. در این ساختار دو لایه لیپیدی، پروتئین‌ها طوری آرایش می‌یابند که بخش‌های آبگریز آنها در خارج قرار گیرند. مجموعه‌های محرک ایمنی (ISCOMs) حامل‌های لیپیدی می‌باشند که در اثر مخلوط کردن پروتئین، دترجنت و گلیکوزیدی به نام Quil A تهیه می‌شوند.

پروتئین‌های غشایی پاتوژن‌های مختلف مثل ویروس آنفولانزا، ویروس سرخک، ویروس هپاتیت B و ویروس HIV در ترکیبات میسلی ، لیپوزومی و ISCOMها وارد شده‌اند و هم‌اکنون به عنوان واکسن‌های بالقوه تحت بررسی می‌باشند. علاوه بر ایمنی‌زایی بالای لیپوزوم‌ها و ISCOMها، به نظر می‌رسد این ترکیبات با غشای پلاسمایی ادغام شده و

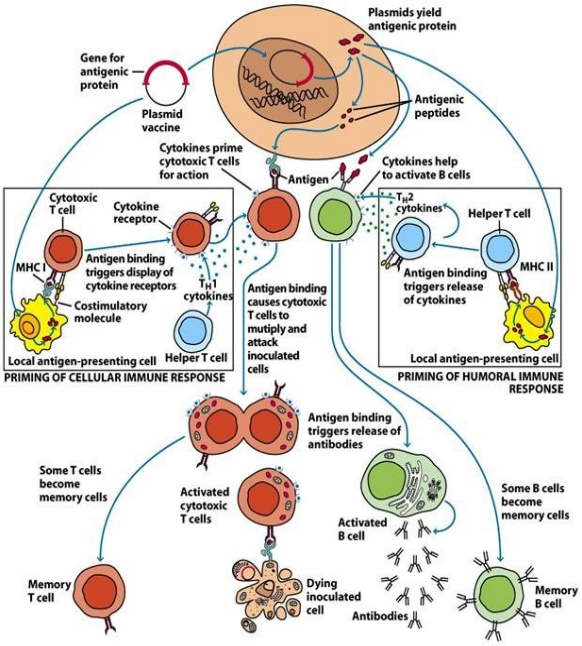
www.bbooks.ir

آنتی‌ژن را به صورت داخل سلولی تحویل می‌دهند، یعنی محلی که آنتی‌ژن‌ها می‌توانند توسط مسیرهای ستیوزولی پردازش شده و در نتیجه یک پاسخ ایمنی سلولی را القا کنند (شکل ۶c-۱۹).

- واکسن‌های DNA

یکی از استراتژی‌های واکسیناسیون که برای تعدادی از بیماری‌ها مورد تحقیق قرار گرفته، استفاده از DNA پلاسمیدی کد کننده پروتئین‌های آنتی‌ژنی است که مستقیماً به داخل عضله گیرنده تزریق می‌شود. سلول‌های عضلانی DNA را برداشت کرده و آنتی‌ژن پروتئینی کد شده توسط آن را بیان می‌کنند که منجر به هر دو نوع پاسخ ایمنی هومورال و سلولی می‌گردد. شگفت‌آورترین موضوع درباره این تکنیک این است که DNA تزریق شده توسط سلول‌های عضلانی میزبان گرفته شده و با کارایی بیشتری نسبت به سلول‌های کشت بافتی بیان می‌شوند. DNA مزبور در داخل DNA کروموزومی قرار می‌گیرد و یا برای مدت طولانی به صورت فرم اپی‌زومی باقی می‌ماند. آنتی‌ژن‌های ویروسی نه تنها توسط سلول‌های عضلانی، بلکه توسط سلول‌های دندریتیک حاضر در محل تزریق نیز بیان می‌شوند. سلول‌های عضلانی مقادیر کمی از مولکول‌های MHC کلاس I را بیان نموده ولی مولکول‌های کمک تحریکی را بیان نمی‌کنند، در نتیجه تصور می‌شود که سلول‌های دندریتیک موضعی نقش مهمی در شکل‌گیری پاسخ‌های آنتی‌ژنی به واکسن‌های DNA بازی می‌کنند (شکل ۷-۱۹).

www.bbooks.ir



شکل مروری ۷-۱۹: استفاده از واکسن های DNA هر دو ایمنی سلولی و هومورال را افزایش می دهد.

به نظر می‌رسد واکسن‌های DNA مزایایی نسبت به بسیاری از واکسن‌های موجود داشته باشند. برای مثال پروتئین‌های کد شده در میزبان ، به شکل طبیعی خود بیان می‌شوند (هیچ‌گونه دناتوراسیون و اصلاحی در آن وجود ندارد). بنابراین پاسخ ایمنی دقیقاً علیه آنتی‌ژنی که توسط پاتوژن بیان می‌گردد، ایجاد می‌شود. همچنین واکسن‌های DNA هر دو شاخه هومورال و سلولی پاسخ ایمنی را القا می‌کنند، در حالی که تحریک این دو شاخه توسط واکسن‌های دیگر، به طور طبیعی نیازمند ایمونیزاسیون با ارگانیسم‌های زنده ضعیف شده می‌باشد که قاعدتاً خطراتی نیز در پی‌خواهد داشت. نهایتاً واکسن‌های DNA موجب بیان طولانی مدت آنتی‌ژن می‌شوند، لذا خاطره ایمنی خوبی ایجاد می‌کنند.

www.bbooks.ir

در هر حال جنبه‌های عملی واکسن‌های DNA امیدوار کننـده مـی‌باشـد (جـدول ۴-۱۹). ذخیره‌سازی و به کارگیری DNAهای پلاسمیدی بـه فریـز کـردن نیـاز نداشـته کـه ایـن خصوصیت، هزینه‌ها و مشکلات حمل‌ونقل را به شدت کاهش می‌دهد. یک حامل پلاسمیدی می‌تواند قابلیت ساخت انواعی از پروتئین‌ها را داشته باشد. بنابراین، هر محصول تولید شـده می‌تواند انواعی از واکسن‌های DNA را ایجاد کند که هر کدام آنتی‌ژن‌های گوناگونی را کـد می‌کنند. یکی از روش‌های پیشرفته تجویز این واکسن‌ها، پوشاندن DNAهای پلاسمیدی بـر سطح دانه‌های میکروسکوپی طلا و سپس تحویل این ذرات توسط تفنگ هوایی (تفنگ ژنـی) از داخل پوست به عضلات زیرین آن می‌باشد. این روش، موجب تحویل سریع واکسـن بـه جمعیت‌های زیاد، بدون نیاز به مقادیر فراوان سرنگ و سوزن می‌گردد.

آزمایش واکسن‌های DNA برروی مدل‌های حیوانی نشان داده است که ایـن واکسـن‌هـا توانایی ایجاد ایمنی محافظت کننده در برابر تعـدادی از پـاتوژن‌هـا مثـل ویـروس هـاری و آنفولانزا دارند. همچنین نشان داده شده که توالی‌های خاصی از DNA موجب افزایش پاسخ ایمنی می‌شود. یکی از این توالی‌ها، تـوالی CpG اسـت کـه در پـاتوژن‌هـا یافـت مـی‌شـود؛ همان‌طور که به خاطر دارید، این توالی لیگاند TLR9می‌باشد. در حال حاضـر واکسـن‌هـای DNA متعددی بر روی انسان در حال بررسی می‌باشند که می‌توان بـه واکسـن‌هـایی مثـل مالاریا، ایدز ، آنفولانزا، ابولا و هرپس اشاره کرد. یکی از موفقیت‌هـای اخیـر، تـأثیر واکسـن DNA در محافظت موش‌ها در برابر برخورد با کوروناویروس SARS می‌باشـد (SARS در فصل ۱۸ مورد بررسی قرار گرفته است). می توان ایمنی را توسط انتقال سرم از گیرنده‌های این واکسن منتقل کرد که این قضیه بیانگر این است که آنتی‌بادی‌های خنثی کننده، در اثـر واکسیناسیون تولید شده‌اند و در مدل موشی نقش حفاظتی برعهده دارند.

در مطالعات آینده واکسن‌های DNA، مخلوطی از ژن‌های پروتئین‌های آنتی‌ژنی و ژن‌های سایتوکاین‌ها یا کموکاین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند تا موجب جهت‌گیری مناسب سیستم

www.bbooks.ir

ایمنی به سمت بهترین مسیرگردد. مثلاً حضور ژن IL-12 در یک واکسن DNA موجب بیان IL-12 در ناحیه ایمونیزاسیون و تحریک ایمنی نوع T_H1 توسط واکسن خواهد گردید.

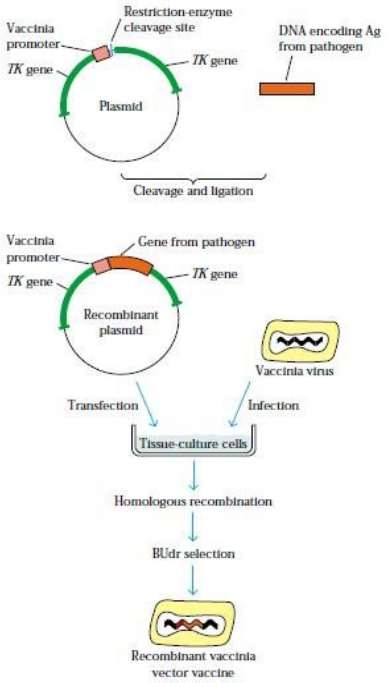
واکسن‌های DNA امروزه در مرحله آزمایشات بالینی هستند و به احتمال زیاد در چندین سال آینده به منظور ایمونیزاسیون انسان به کار گرفته خواهند شد. هر چند که آنها راه‌حلی کلی برای مشکلات واکسیناسیون نمی‌باشند. برای مثال، تنها آنتی‌ژن‌های پروتئینی می‌توانند کد شوند و واکسن‌های خاصی نظیر آنهایی که برای عفونت‌های مننگوکوکی یا پنوکوکی به کار می‌روند و از آنتی‌ژن‌های پلی‌ساکاریدی استفاده می‌کنند، کاندید واکسن‌های DNA نمی‌باشند.

- واکسن‌های ناقل نوترکیب

ژن های کدکننده آنتی‌ژن‌های اصلی پاتوژن‌های بیماریزا را می‌توان به باکتری‌ها یا ویروس‌های ضعیف شده وارد کرد. ارگانیسم ضعیف شده به عنوان یک ناقل عمل‌کرده و با تکثیر در بدن میزبان، محصول ژنی پاتوژن را بیان می‌کنند. واکسن‌های ویروسی زنده ضعیف شده با به خدمت گرفتن واکسن‌های مجاز موجود و اضافه کردن ژن‌های کد کننده آنتی‌ژن‌های پاتوژن‌ها به آنها، تولید می‌شوند. این نوع واکسن‌های ویروسی کایمریک را می‌توان با سرعت بیشتری نسبت به یک محصول کاملاً جدید مورد آزمایش قرار داد و مجوز استفاده از آنها را صادر کرد، بنابراین در زمان صرفه‌جویی می‌شود. یکی از جدیدترین مثال‌های این نوع از واکسن‌ها، واکسن تب‌زرد است که برای بیان آنتی‌ژن‌های ویروسی نیل غربی مهندسی شده است. از ارگانیسم‌هایی که به عنوان ناقل مورد استفاده قرار گرفته‌اند می‌توان به ویروس واکسینیا، ویروس آبله قناری، ویروس فلج اطفال ضعیف شده، آدنوویروس، سویه‌های ضعیف شده سالمونلا، سویه BCG مایکوباکتریوم بوویس و سویه‌هایی از استرپتوکوک که به صورت طبیعی در حفره دهان حضور دارند، اشاره کرد.

www.bbooks.ir

ویروس واکسینیا (واکسن ضعیف شده‌ای که برای ریشه‌کنی آبله مورد استفاده قرار گرفته است) به طور گسترده‌ای به عنوان ناقل به کار گرفتـه شـده‌اسـت. ایـن ویـروس پیچیـده و بزرگ، دارای ژنومی با حدود ۲۰۰ ژن می‌باشد و قادر است بدون آنکه اختلالـی در توانـایی ایجاد عفونت و تکثیرش در سلول‌های میزبان ایجاد شود، چندین دوجین از ژن‌های بیگانه را حمل کند. روش تولید واکسینایی ناقل که ژنی بیگانه از یک پاتوژن را حمل می‌کند در شکل ۸-۱۹ به تصویر کشیده شده است.



شکل ۸-۱۹:تولید واکسن ناقل واکسینیا. ژن کدکننده آنتی ژن مورد نظر به یک پلاسمید ناقل و در مجاورت یک پروموتر واکسینیا و در مجاورت ژن تیمیدین کیناز (TK) واکسینیا ادغام می شود. زمانی که سلول های کشت بافت، همزمان با ویروس و پلاسمید نوترکیب انکوبه می شوند، ژن آنتی ژن و پروموتر با نوترکیبی همولوگ در جایگاه غیر ضروری TK در ژنوم واکسینیا ادغام می شوند و یک ویروس نوترکیب TK تولید می‌شود. سلول های حاوی ویروس نوترکیب واکسینیا با افزودن برومو د اکسی یوریدین (BUdr) گزینش می‌شوند که سلول های TK^+ را می کشند.

www.bbooks.ir

واکسینایی که تحت مهندسی ژنتیکی قرار گرفته، مقادیر بالایی از محصولات ژنی داخل شده را بیان می‌کند، بنابراین به عنوان یک ایمونوژن قوی در میزبان تلقیح شده، عمل خواهد کرد. این واکسن را می‌توان همانند واکسن آبله توسط ایجاد خراش و یک عفونت موضعی، مورد استفاده قرار داد. در صورتی که محصول ژن بیگانه که توسط واکسینیا بیان می‌شود، یک پروتئین پوششی ویروس باشد، وارد غشای سلولی میزبان شده و همانند شاخه هومورال، ایمنی سلولی را نیز القا می‌کند.

ممکن است واکسن‌های ناقل ضعیف شده دیگری که ایمن‌تر از واکسن واکسینیا باشند تولید گردند. اخیراً ویروس آبله قناری به عنوان واکسن ناقل مورد بررسی قرار گرفته است. این ویروس همانند خویشاوند خود یعنی واکسینیا، بزرگ بوده و به سادگی می‌تواند چندین ژن را حمل کند. ویروس آبله قناری برخلاف واکسینیا، حتی در افرادی که سیستم ایمنیشان به شدت سرکوب شده است نیز بیماری‌زا نمی‌باشد. ناقل محتمل دیگر، سویه‌های ضعیف شده سالمونلاتیفی‌موریوم بوده که با ژن‌های باکتری مولد وبا دست‌کاری شده‌اند. مزایای این واکسن ناقل در اینجاست که سالمونلا سلول‌های مخاطی روده را عفونی کرده و در نتیجه، موجب القای تولید IgA ترشحی می‌گردد. همان‌طور که می‌دانید، ایمنی مؤثر در برابر برخی بیماری‌ها مثل وبا و سوزاک، بستگی به تولید IgA ترشحی در سطح غشاهای مخاطی دارد.

استراتژی‌های مشابهی در راستای استفاده از باکتری‌های فلور طبیعی دهان در حال انجام است. این روش‌ها شامل ورود ژن‌های کدکننده آنتی‌ژن‌های پاتوژن به گونه‌های باکتریایی فلور طبیعی حفره دهانی یا مجاری تنفسی می‌باشد. ایجاد ایمنی در سطح مخاط، می‌تواند محافظت بسیار خوبی علیه پاتوژن برقرار کند.

www.bbooks.ir

- خلاصه

- ایمونیزاسیون فعال و یا غیر فعال موجب القای ایمنی می‌گردند. ایمونیزاسیون غیرفعال و کوتاه مدت، در اثر انتقال آنتی‌بادی‌های از پیش‌ساخته شده، القا می‌شود عفونت یا واکسیناسیون موجب ایمونیزاسیون فعال و بلند مدت می گردند.
- در حال حاضر سه نوع واکسن در انسان کاربرد دارند: میکروارگانیسم‌های زنده ضعیف‌شده (غیر بیماریزا)، میکرو ارگانیسم‌های غیرفعال‌شده (کشته شده)و ماکرومولکول‌های خالص
- اجزای پروتئینی پاتوژن‌ها که در کشت سلولی بیان می‌شوند، می‌توانند واکسن‌های قدرتمندی باشند. واکسن‌های پلی‌ساکاریدی را می‌توان به منظور به حداکثر رساندن ایمنی‌زایی، با پروتئین‌ها کونژوگه کرد.
- ناقل‌های نوترکیب مثل ویروس‌ها یا باکتری‌ها که به منظور حمل ژن های میکروارگانیسم‌های عفونی، دستکاری شده اند، ایمنی سلولی در برابر آنتی‌ژن‌های کدکننده را به حداکثر می‌رسانند.
- DNA پلاسمیدی که آنتی‌ژن‌های پروتئینی پاتوژن ها را کد می‌کند، هم ایمنی سلولی و هم ایمنی هومورال را القا می‌کند؛ واکسن‌های DNA برای چندین بیماری، مراحل کارآزمایی بالینی انسانی را طی می کنند.
- بهینه‌سازی منافع واکسن‌ها، نیازمند تولید ارزانتر و بهبود روش‌های حمل و نقل واکسن‌های موجود می‌باشد.

سئوالات درسی

- **سئوال تمرکز بالینی**. میان یک واکسن جدید پنوموکوک و شکلی نسبتاً نادر از آرتریت، ارتباطی گزارش شده است. به منظور بررسی دقیق این گزارش به چه اطلاعاتی نیاز دارید؟ برای ارزیابی این ارتباط چگونه اقدام می‌کنید؟

www.bbooks.ir

۱- صحیح یا غلط بودن هریک از جملات زیر را مشخص کنید. در صورتی که فکر می‌کنید گزینه‌ای نادرست می‌باشد، علت را توضیح دهید.

الف) انتقال آنتی‌بادی‌های IgG مادری از طریق جفت به جنین موجب ایمنی کوتاه مدت در جنین می گردد.

ب) واکسن‌های ضعیف شده نسبت به واکسن‌های کشته شده، بیشتر موجب القای ایمنی سلولی می‌گردند.

پ) واکسن‌های زیرواحد چند ظرفیتی عموماً پاسخ قوی‌تری نسبت به واکسن‌های پپتیدی مصنوعی القا می‌کنند.

ت) یکی از معایب واکسن‌های DNA، عدم ایجاد خاطره ایمونولوژیک قابل قبول می‌باشد.

ث) ماکرومولکول‌ها عمدتاً دارای اپی‌توپ‌های زیادی هستند.

ج) واکسن DNA تنها موجب القای پاسخ علیه یک اپی‌توپ می گردد.

۲- مزایا و معایب کاربرد ارگانیسم‌های زنده ضعیف شده به عنوان واکسن کدامند؟

۳- یک دختر جوان که هرگز در برابر کزاز ایمن نشده بود با یک سوزن زنگ‌زده دچار زخم عمیق شد. پزشک زخم او را تمیز کرد و به او ضد سم کزاز ترزیق نمود.

الف) چرا به جای استفاده از تقویت‌کننده توکسوئید کزاز از آنتی‌توکسین استفاده شد؟

ب) در صورتی که دختر درمان‌های بعدی را دریافت نکند و ۳ سال بعد دوباره با سوزن زنگ‌زده زخمی شود،آیا در برابر کزاز ایمن خواهد شد؟

۴- مزایای واکسن سابین فلج اطفال در مقایسه با واکسن سالک چیست؟ چرا واکسن سابین در ایالات متحده دیگر توصیه نمی‌شود؟

۵- چرا واکسن زنده ضعیف شده آنفولانزا (FIuMist) عفونت تنفسی ایجاد می‌کند؟

www.bbooks.ir

۶- در تلاش جهت ساخت واکسن پپتیدی مصنوعی، توالی اسید آمینه‌های یک آنتی‌ژن پروتئینی را به صورت: الف) پپتیدهای آبدوست ب) پپتیدهای آبگریز تعیین کرده‌اید. هر یک از این نوع پپتیدها باید چگونه به کار روند تا پاسخ‌های ایمنی مختلفی را القا کنند؟

۷- پدیده « ایمنی جمعی» را توضیح دهید. این پدیده چگونه با ظهور برخی اپیدمی‌ها در ارتباط است؟

۸- شما یک آنتی‌ژن پروتئینی باکتریایی که موجب ایمنی محافظت کننده در برابر پاتوژن می‌شود را شناسایی و ژن کد کننده آن را کلون کرده‌اید. راههای ممکن عبارتند از: بیان پروتئین در مخمر و استفاده از پروتئین نوترکیب به عنوان واکسن و یا استفاده از ژن پروتئین برای تهیه واکسن DNA. شما کدام روش را انتخاب می‌کنید؟ چرا؟

۹- ارتباط بین دوره کمون یک عامل بیماری‌زا و روشی که برای دستیابی به یک ایمنی فعال مؤثر نیاز می‌باشد را توضیح دهید؟

۱۰-سه نوع ماکرومولکول خالص شده را که به طور رایج به عنوان واکسن به کار می‌روند، نام ببرید.

۱۱-یک مثالی از واکسیناسیون غیرفعال، تزریق رگام (آنتی‌بادی‌های انسانی شده علیه آنتی‌ژن‌های Rh) به مادران Rh^- که فرزندان Rh^+ را باردارند، می‌باشد. چرا این واکسن در نوزاد ایجاد هماگلوتیناسیون نمی‌کند؟

۱۲-برخی از والدین، فرزندانشان را واکسینه نمی‌کنند. دلایل این امر عبارتند از: عقاید مذهبی،واکنش‌های آلرژیک، ترس از این که نوزاد به بیماری که علیه آن واکسینه شده مبتلا شود و اخیراً هراس از ایجاد اوتیسم توسط واکسن که البته تحقیقات آن را

www.bbooks.ir

تأیید نکرده‌اند. واکسنیه نشدن بخش عمده‌ای از جامعه علیه بیماری‌های دوران کودکی مثل سرخک یا سیاه سرفه چه عواقبی در پی خواهد داشت؟

۱۳-مشخص کنید برای هر یک از بیماری‌های زیر چه نوع واکسنی به کار می‌رود.

الف) فلج اطفال

ب) آبله مرغان

پ) کزاز

ت) هپاتیت B

ث) وبا

ج) سرخک

چ) اوریون

۱- غیر فعال شده

۲- ضعیف شده

۳- اگزوتوکسین غیرفعال شده

۴- ماکرومولکول خالص شده

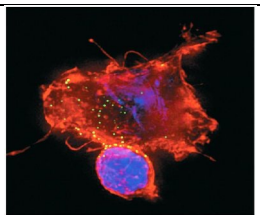
www.bbooks.ir

فصل بیستم

ایدز و سایر بیماری‌های نقص ایمنی

- نقص ایمنی‌های اولیه
- ایدز و سایر نقص‌های اکتسابی یا ثانویه

www.bbooks.ir



همانند تمام سیستم‌های پیچیده چند جزئی ، سیستم ایمنی نیـز در معـرض نارسـایی‌هـای برخی یا تمام اجزای خود می‌باشد . این نارسایی‌ها می‌توانند پیامدهای شومی داشته باشند. هنگامی که این سیستم قدرت تشخیص خودی از بیگانه را از دست دهد، نتیجه آن **خـود ایمنی**[1] می‌باشد که در فصل ۱۶ به آن پرداخته شد. زمـانی کـه ایـن سیسـتم بـا نـاتوانی درحفاظت میزبان از عوامل بیماری‌زا یا سلول‌های بدخیم دچار خطا شود، نتیجه آن **نقـص ایمنی**[2] بوده که موضوع این فصل می‌باشد.

به حالتی که در اثر یک نقص ژنتیکی یاتکاملی در سیستم ایمنی ایجاد شـود، نقـص ایمنـی اولیه می‌گویند. در چنین شرایطی، نقص از زمان تولد وجود داشته، هر چند که ممکن است تا مراحل بعدی زندگی خود را بارز نکند. نقص ایمنی ثانویـه یـا اکتسـابی از دسـت دادن عملکرد ایمنی بوده و از قرارگیری در معرض عوامل متنوعی ایجاد مـی‌شـود. رایـج‌تـرین نقص ایمنی ثانویه تاکنون **سندرم نقص ایمنی اکتسابی**[3] یا **ایدز** بوده است کـه در نتیجـه عفونت با ویروس نقص ایمنی انسانی -۱ (HIV-1) ایجاد می‌شود. در سـال ۲۰۰۵ ، **ایـدز** تقریباً جان ۳/۱ میلیون نفر را گرفت که ۵۰۰۰۰۰ نفر آنان را کودکان زیر ۳ سال تشکیل می‌دادند. عفونت HIV با سرعت تخمینی ۱۴۰۰۰ نفر در روز، در حال گسترش می‌باشـد. بیماران مبتلا به ایدز همانند سایر افراد مبتلا به کمبود ایمنی حاد در معرض خطر عفونت با عوامل فرصت طلب می‌باشند. اینها میکروارگانیسم‌هایی هستند که افراد سالم بدون این

1-autoimmunity
2- immunodeficiency
3-acquired immunodeficiency syndrome

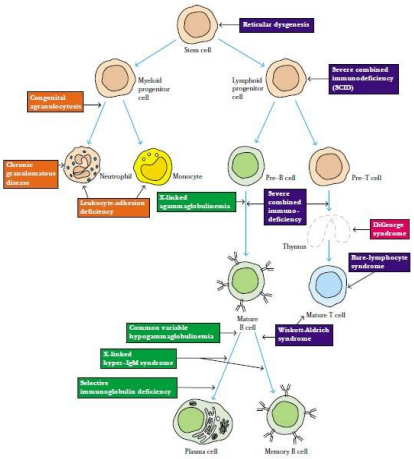
www.bbooks.ir

که به بیماری دچار شوند با آنها زندگی می‌کنند ولی در افرادی که عملکرد ایمنی تخریب شده دارند، موجب ایجاد بیماری می‌شوند.

بخش اول این فصل، کمبودهای اولیه ایمنی شایع را شرح داده، پیشرفت در شناسایی نقایص ژنتیکی که علت این ناهنجاری‌ها می‌باشند را بررسی کرده، و روش‌های درمان آنها مثل ژن درمانی را مورد بررسی قرار می‌دهد. مدل‌های حیوانی کمبود ایمنی اولیه نیز شرح داده شده‌اند. باقی این فصل، کمبود ایمنی اکتسابی با تمرکز بیشتر بر روی عفونت HIV و تاثیر آن بر روی سیستم ایمنی، ایدز و وضعیت موجود استراتژی‌های درمانی و پیشگیری‌کننده جهت مقابله با این نوع از کمبود ایمنی را شرح خواهد داد.

- کمبودهای ایمنی اولیه

یک کمبود ایمنی اولیه می‌تواند بر عملکردهای ایمنی تطبیقی یا ذاتی تاثیر بگذارد. بنابراین، کمبودهای ایمنی تطبیقی مثل سلول‌های B و T از کمبود در اجزای ایمنی ذاتی مثل فاگوسیت‌ها یا کمپلمان، متمایز می‌باشند.



شکل ۱-۲۰: نقایص مادرزادی که موجب اختلال در خونسازی یا نقص عملکرد سلول های ایمنی و درنتیجه موجب بیماری های نقص ایمنی مختلفی می شوند.

www.bbooks.ir

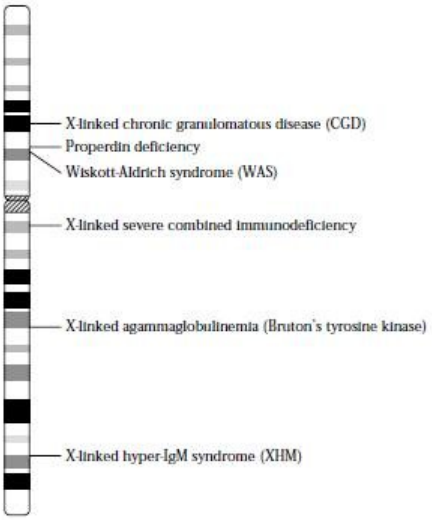
کمبودهای ایمنی به راحتی و بر مبنای مرحله تکاملی سلول‌های درگیر، طبقه‌بندی می‌شوند (شکل ۱-۲۰) تکامل سلول‌های سیستم ایمنی را به صورت کلی مرور کرده و جایگاههای کمبودهایی که به کمبود ایمنی اولیه منجر می‌شوند را نشان می دهد. همان طور که در فصل ۲ شرح داده شد، دو رده سلولی لنفوئید ومیلوئید در عملکرد ایمنی اهمیت زیادی دارند. اکثر نقایصی که به کمبود ایمنی منجر می‌شوند، یکی از این دو رده را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اختلالات سلول‌های لنفوئید می‌توانند بر سلول‌های B،T و در نقص ایمنی‌های مرکب بر هر دوی آنها تاثیر بگذارند. اختلالات سلول‌های میلوئید، عملکرد فاگوسیتی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اکثر کمبودهای ایمنی اولیه ارثی بوده و نقایص ژنتیکی و تغییرات مولکولی که منجر به بسیاری از این ناکارآمدی‌ها می‌گردند، به طور دقیق تعیین شده‌اند (جدول ۱-۲۰ و شکل ۲-۲۰).

TABLE 20-1 Some primary human immunodeficiency diseases and underlying genetic defects

Immunodeficiency disease	Specific defect	Impaired function	Inheritance mode*	Chromosomal defect
Severe combined immunodeficiency (SCID)	*RAG-1/RAG-2* deficiency	No TCR or Ig gene rearrangement	AR	11p13
	ADA deficiency	Toxic metabolite in T and B cells	AR	20q13
	PNP deficiency		AR	14q13
	JAK-3 deficiency	Defective signals from IL-2, -4, -7, -9, -15,	AR	19p13
	IL-2Rγ-deficiency		XL	Xq13
	ZAP-70 deficiency	Defective signal from TCR	AR	2q12
Bare-lymphocyte syndrome	Defect in MHC class II gene promoter	No class II MHC molecules	AR	16p13
Wiskott-Aldrich syndrome (WAS)	Cytoskeletal protein (CD43)	Defective T cells and platelets	XL	Xp11
Interferon gamma receptor	IFN-γ-receptor defect	Impaired immunity to mycobacteria	AR	6q23
DiGeorge syndrome	Thymic aplasia	T- and B-cell development	AD	22q11
Ataxia telangiectasia	Defective cell-cycle kinase	Low IgA, IgE	AR	11q22
Gammaglobulinemias	X-linked agammaglobulinemia	Bruton's tyrosine kinase (Btk); no mature B cells	XL	Xq21
	X-linked hyper-IgM syndrome	Defective CD40 ligand	XL	Xq26
	Common variable immunodeficiency	Low IgG, IgA; variable IgM	Complex	
	Selective IgA deficiency	Low or no IgA	Complex	
Chronic granulomatous disease	Cyt p91^{phox}	No oxidative burst for bacterial killing	XL	Xp21
	Cyt p67^{phox}		AR	1q25
	Cyt p22^{phox}		AR	16q24
Chediak-Higashi syndrome	Defective intracellular transport protein (LYST)	Inability to lyse bacteria	AR	1q42
Leukocyte adhesion defect	Defective integrin β2 (CD18)	Leukocyte extravasation	AR	21q22

*AR = autosomal recessive; AD = autosomal dominant; XL = X linked; "Complex" indicates conditions for which precise genetic data are not available and that may involve several interacting loci.

www.bbooks.ir



شکل ۲-۲۰: چند بیماری نقص ایمنی وابسته به جنس ناشی از اختلال در کروموزوم X.

علاوه برآن ، بعضی از نقایص ایمنی از عیوب تکاملی نشات می‌گیرند که در عملکرد مناسب یک عضو سیستم ایمنی اختلال ایجاد می‌کنند.

پیامدهای کمبود ایمنی اولیه به تعداد و نوع اجزای سیستم ایمنی درگیر در آن، بستگی دارد. نقایص اجزای ابتدایی خونسازی کل سیستم ایمنی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در این دسته، می‌توان به رتیکولاردیس ژنز[1] اشاره کرد که نقص یک سلول بنیادی بر بلوغ تمام لکوسیت‌ها تاثیر می‌گذارد ونارسایی ایمنی حاصله منجر به استعداد ابتلا به عفونت توسط طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها گردد. بدون درمان تهاجمی، معمولاً فرد مبتلا در اثرعفونت شدید در جوانی فوت می‌کند. در یک مورد محدودتر، نقص عملکرد فاگوسیتی منجر به استعداد عفونت باکتریایی می‌شود. نقایص اجزای کاملاً تمایز یافته سیستم اینی پیامدهای اختصاصی‌تر و معمولاً خفیف‌تری دارند. برای مثال، فرد مبتلا به کمبود انتخابی

1-reticular dysgenesis

www.bbooks.ir

IgA، می‌تواند از تمام زمان زندگی خود لذت ببرد و تنها کمی بیشتر از افراد طبیعی، به عفونت‌های تنفسی و مجاری ادراری – تناسلی حساس می‌باشد.

- نقص‌های ایمنی لنفوئید ممکن است سلول‌های B ،T یا هر دو را درگیر کنند

اشکال ترکیبی نقص ایمنی لنفوئید، هر دو ردهٔ سلولی را تحت تاثیر قرار داده و معمولاً در سال‌های ابتدایی زندگی، کشنده می‌باشند. این بیماری‌ها از نقایص عملکردی سلول‌های مختلف یا میانکنش‌های سلولی که برای شکل‌گیری پاسخ‌های ایمنی، ضروری هستند، ایجاد می‌شوند. آنها شیوع کمی داشته و در مقایسه با شرایط ایجاد شده در اثر نقص سلول‌های تمایز یافته‌تر، شدیدتر می‌باشند.

اختلالات نقص ایمنی سلول‌های B ، طیف گسترده‌ای داشته که از غیاب کامل سلول‌های B بالغ بازگردش کننده، پلاسماسل‌ها و ایمونوگلبولین‌ها تا غیاب تنها یک کلاس ایمونوگلبولین گسترده می‌باشند. بیماران مبتلا به این اختلالات، معمولاً در معرض عفونت‌های باکتریایی عود کننده هستند، اما در برابر اکثر عفونت‌های قارچی و ویروسی پاسخ ایمنی طبیعی دارند، بدلیل این که شاخه سلول T سیستم ایمنی به مقدار زیادی تحت تاثیر این اختلالات قرار نگرفته است. در بیماران مبتلا به نقص ایمنی هومورال، عفونت با باکتری‌های کپسول‌دار مثل *استافیلوکوک*، *استرپتوکوک* و *پنوموکوک* شیوع بیشتری داشته، زیرا آنتی‌بادی در اپسونیزاسیون و پاکسازی این ارگانیسم‌ها ضروری می‌باشد.

به علت نقش مرکزی سلول‌های T در سیستم ایمنی، نقص سلول T می‌تواند هم بر پاسخ‌های سلولی و هم پاسخ‌های هومورال تاثیر داشته باشد. تاثیر آن بر پاسخ‌های ایمنی سلولی می‌تواند شدید بوده و با کاهش پاسخ‌های ازدیاد حساسیت تاخیری و ستیوتوکسیسیته سلولی همراه باشد. نقایص ایمونوگلبولین با عفونت‌های عود کننده توسط باکتری‌های خارج سلولی ارتباط دارند. اما افراد مبتلا ، در برابر باکتری‌های داخل سلولی و عفونت‌های قارچی و ویروسی پاسخ طبیعی نشان می‌دهند. در طرف مقابل، نقص در ایمنی

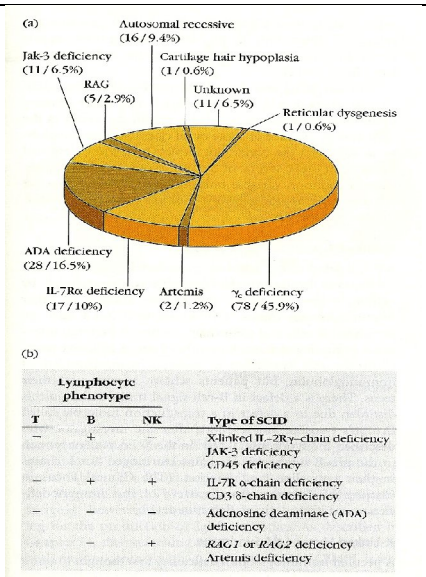
www.bbooks.ir

سلولی ، با افزایش حساسیت به عفونت‌های ویروسی، تک یاخته‌ای و قارچی همراه می‌باشد. پاتوژن‌های داخل سلولی مثل *کاندیدا آلبیکنس* ، *پنوموسیتیس کارینی* و *مایکوباکتریوم‌ها*، اغلب در این نوع نقص ایمنی درگیر بوده که نشان دهنده اهمیت سلول‌های T در حذف پاتوژن‌های داخل سلولی می‌باشد. عفونت‌های ویروسی که به ندرت برای افراد طبیعی بیماری‌زا می‌باشند (مثل سیتومگالوویروس یا حتی واکسن ضعیف شده سرخک)، می‌توانند برای افرادی که سیستم ایمنی سلولی تخریب شده دارند،کشنده باشند. نقایصی که موجب کاهش تعداد سلول‌های T می‌گردند، معمولاً سیستم ایمنی هومورال را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهند، بدلیل این که فعالیت سلول‌های B به کمک سلول‌های T_H نیاز دارد.

همان‌طور که می‌توان انتظار داشت نقایص مرکب سیستم هومورال و سلولی، جدی‌ترین اختلالات نقص ایمنی می‌باشند. شروع حملات عفونت در دوران نوزادی می‌باشد و در صورت عدم مداخله درمانی که به بازسازی سیستم ایمنی می‌انجامد، پیش اگهی این نوزادان، مرگ زودرس می‌باشد. همان طور که در زیر توضیح داده شده، انتخاب‌های متعددی برای درمان نقص ایمنی وجود دارد.

تمامی نقایص ایمنی که بر عملکرد لنفوئید اثر دارند، در ایجاد و حفظ یک پاسخ ایمنی کامل در برابر عوامل اختصاصی با هم اشتراک دارند. نارسایی‌های متنوعی می‌توانند به چنین نقایصی منجر شوند. نقص در ارتباط‌های بین سلولی می‌تواند ریشه در جهش‌های ژنتیکی ژن‌های کد کنندهٔ پذیرنده‌های سطح سلولی یا مولکول‌های دخیل در انتقال پیام داشته باشد؛ نقص در مکانیسم‌های بازآرایی ژنتیکی می‌تواند از پاسخ‌های طبیعی سلول‌هایB یا T جلوگیری کند. شکل ۳-۲۰ مولکول‌های دخیل در میانکنش‌های شناخته شده سلول‌های B و T که به پاسخ‌های اختصاصی منجر می‌شوند را بررسی می‌کند.

www.bbooks.ir



شکل ۳-۲۰: عوامل SCID. (a) توزیع نقایص ژنتیکی در ۱۷۰ مورد مبتلایان به SCID بالای ۳۵ سال. (b) فنوتایپ های سلولی مربوط به نقایص مختلف ژنتیکی در SCID.

- نقص ایمنی مرکب شدید[1] (SCIC)

خانواده ناهنجاری‌های SCID از نقایص تکاملی لنفوئید نشأت گرفته که یا سلول‌های T را به تنهایی و یا همراه با سلول‌های B و NK تحت تاثیر قرار می‌دهند. بسته به نوع نقص ژنتیکی ، یک بیمار SCID می تواند یکی از چندین فنوتیپ سلول لنفاوی را داشته باشد. تمامی آنها با نقص در عملکرد سلول T مشخص می‌شوند و این نقص عملکردی می‌تواند به سلول‌های B و NK نیزگسترش یابد. بدلیل این که نقص سلول T در تمام موارد SCID مشترک می‌باشد، اخیراً یک تست غربالگری SCID برای نوزادان توصیف شده است که مستلزم اندازه‌گیری قطعات حلقوی DNA بریده شده از لوکوس TCR در

1-severe combined immunodeficiency

www.bbooks.ir

سلول‌های خونی است که شاهدی بر بازآرایی ژن TCR می‌باشند. نتایج غیر طبیعی این آزمایش ، تشخیص زودهنگام را قبل از شروع عفونت‌های مهلک، امکان پذیر می‌سازد.

تمامی اشکال SCID ، علیرغم تفاوت‌های نقص‌های ژنتیکی، دارای خصوصیات مشترکی می‌باشند. از نظر بالینی، SCID با تعداد بسیار کم لنفوسیت‌های در گردش، مشخص می‌گردد و ایجاد یک پاسخ ایمنی با واسطه سلول‌های T با شکست مواجه می‌شود. تیموس تکامل نمی‌یابد و تعداد کمی از لنفوسیت‌های Tدر حال گردش بیمار SCID به میتوژن‌ها پاسخ نداده که نشان‌می‌دهد آنها در برابر آنتی‌ژن‌ها قادر به تکثیر نمی‌باشند. سلول‌های میلوئید و اریتروئید (پیش‌سازهای گلبول قرمز) از نظر تعداد، عملکرد طبیعی نشان می‌دهد. در SCID تنها سلول‌های لنفوئید تخلیه می‌شوند.

SCID منجر به عفونت‌های عود کننده شدید می‌شود. معمولاً در سال‌های اولیه زندگی موجب مرگ می‌گردد. هر چند که ممکن است هر دو رده سلولی B و T تحت تاثیر قرار گیرند، شروع بارز شدن SCID در نوزادان ، تقریباً همیشه با عفونت در اثر عوامل قارچی و ویروسی مشخص می‌گردد که در حالت طبیعی با پاسخ سلول T سروکار دارند. نقایص رده سلولی B در چند ماه اول زندگی مشهود نمی‌باشند، زیر آنتی‌بادی‌ها قبلاً به صورت غیر فعال از طریق گردش خون جفت یا شیر مادر بدست آمده‌اند. نوزادان مبتلا به SCID از اسهال مزمن، پنومونی و آسیب‌های پوست ، دهان وگلو به عنوان میزبان عفونت‌های فرصت طلب رنج می‌برند. سیستم ایمنی به قدری تضعیف شده است که حتی واکسن‌های زنده ضعیف شده (مثل واکسن سابین فلج اطفال) قادر به ایجاد عفونت و بیماری می‌باشند. با جلوگیری از تماس با تمامی میکروارگانیسم‌های بالقوه آسیب‌رسان ، مدت زمان حیات یک بیمار SCID را می‌توان طولانی کرد. هر چند که برای جلوگیری از تماس مستقیم با سایر افراد و هوای تصفیه نشده به تلاش‌های فوق‌العاده‌ای نیاز می‌باشد.

www.bbooks.ir

جستجو برای نقایصی که در SCID دخیل هستند، چندین عامل را برای این نارسایی کلی سیستم ایمنی مشخص کرد. اخیراً در یک بررسی که توسط ربکابوکلی[1] در دانشگاه دوک بر روی ۱۷۰ بیمار صورت گرفته، شایع‌ترین علت (۷۸ مورد) نقص در زنجیره گامای مشترک پذیرنده IL-2 (IL-2Rγ ؛ شکل ۷-۱۲) بود. نقایص این زنجیره، نه تنها مانع انتقال پیام توسط IL-2R می‌گردد. بلکه بدلیل این که این زنجیره در پذیرنده‌های IL-4 15, 9, 7 نیز شرکت دارد، انتقال پیام از طریق آنها نیز با اختلال همراه خواهد شد. نقص کیناز JAK-3 نیز چنین فنوتیپی به همراه خواهد داشت(۱۱ مورد)، زیرا پذیرنده‌هایIL از آن جهت انتقال پیام استفاده می‌کنند. در برخی مواقع (۱۷ مورد) پذیرنده IL-7 نقص دارد که این بیماران، سلول‌های T آسیب دیده ولی سلول‌های B و NK طبیعی دارند. نقص شایع دیگر، مربوط به آنزیم آدنوزین دآمنیاز (ADA)می‌باشد (۲۸ مورد). این آنزیم ، تبدیل آدنوزین به اینوزین را کاتالیز می‌کند و نقص آن منجر به تجمع آدنوزین می‌گردد که در متابولیسم پورین‌ها و سنتز DNA تداخل ایجاد می‌کند. کمبود ADA منجر به نقایص سلول‌های NK, T, B می‌شود. نقایص ژن‌های فعال کننده رکامبنیاز[2] (RAG-2, RAG-1) ، بازآرایی‌های ژن TCR و ایمونوگلبولین را با مشکل مواجه می‌کند و منجر به غیبت سلوهای B و T اجرایی گشته ولی روی سلول‌های NK تاثیری ندارند (در ۵ مورد مشاهده شد). همان‌طور که در فصل ۵ و ۹ شرح داده شد، ژن‌های TCR و ایمونوگلبولین، به منظور بیان اشکال فعال محصولاتشان، به بازآرایی نیاز دارند. موارد باقیمانده، شامل نمونه‌های منفردی از رتیکولاردیس‌ژنز و دیس‌پلازی مویی غضروف بوده و یا به صورت نقایص اتوزومال مغلبی طبقه‌بندی می‌شوند که با جهش‌های شناخته شده Il-2Rγ یا JAK-3 ارتباطی ندارند. دو نفر از بیمارن، نقایصی در ژن معروف به *Artemis* داشتند که یک آنزیم نوترکیبی وترمیم DNA را کد می‌کند. در یک مورد؛ نقصی در ژن فسفاتاز سطحی

1-Rebecca Buckley
2-recombinase activating genes

www.bbooks.ir

سلولی CD45 مشاهده شد. به طور جالب توجهی این نقص با فقدان سلول‌های αβT همراه بود ولی تأثیری بر روی رده سلولی γδ نداشت و منجر بـه افـزایش تعـداد سـلول‌هـای B می‌گشت . ۱۱ نفر از ۱۷۰ مورد، فاقد نقص ژنتیکی آشکار یا تاریخچه خـانوادگی از نقـص ایمنی بودند.

نقایص شناخته شده دیگر، عملکرد سلول‌های T را تخریب کرده و نقایص شـبه SCID را ایجاد می‌کنند. یک نقص با تخلیه سلول‌های $CD8^+T$ مشخص شده و آنزیم تیروزین کینـاز ZAP-70 که جزء مهمی در انتقال پیام سلول‌های T می‌باشد را درگیر می‌کنـد (شـکل ۱۱-۱۰). نوزادانی که در ZAP-70 نقص دارند، ممکن است دارای مقادیر طبیعی ایمونوگلبـولین و لنفوسیت‌های $CD4^+T$ باشند ولی سلول‌های $CD4^+$ آنها فاقد عملکـرد مـی‌باشـند. نقـص آنزیم پورین نوکلئوزیدفسفریلاز (PNP) با مکانیسمی مشابه با نقص ADA منجر بـه نقـص ایمنی می‌گردد. یک نقص منجـر شـونده بـه نارسـایی کلـی ایمنـی مشـابه SCID، نـاتوانی نسخه‌برداری از ژن‌های کد کننده مولکول‌هـای MHC کـلاسIIمـی‌باشـد. در غیـاب ایـن مولکول‌ها، لنفوسیت‌های بیمار قادر به میانکنش با سلول‌های Tکمکی نمی‌باشند. ایـن نـوع از نقص ایمنی سندرم لنفوسیت برهنه[1] خوانده می‌شـود (تمرکـز بـالینی فصـل ۸). مطالعـات مولکـولی نقـص MHC کـلاس II، یـک میـانکش‌نـاقص بـین پرومـوتر '۵ ژن کـد کننـده MHCکلاس IIو پروتئین متصل شونده به DNA که برای رونویسی ضـروری مـی‌باشـد را مشخص می‌کنند. سایر بیمارانی که دارای علائم شـبه SCID هسـتند، فاقـد مولکـول‌هـای MHCکلاس I می‌باشند. این شکل نادر از نقص ایمنی به جهـش ژن‌هـای TAP کـه بـرای پردازش آنتی‌ژن توسط مولکول‌های MHC کلاس Iضروری می‌باشند. نسبت داده می‌شـود. این نوع نقص ایمنی، سلول‌های $CD8^+$ را تحت تأثیر قرار داده و با حساسیت به عفونت‌های ویروسی مشخص می‌گردد.

1-bare lymphocyte syndrome

www.bbooks.ir

سندرم ویسکوت – آلدریچ[1] (WAS)

شدت این ناهنجاری وابسته به جنس، با افزایش سن زیادتر شده و معمولاً منجر به عفونت کشنده یا بدخیمی لنفاوی می‌گردد. تعداد سلول‌های B و T، طبیعی بوده، پاسخ به پلی ساکاریدهای باکتریای، مشکل داشته و مقادیر IgM پایین‌تر از متوسط می‌باشند. در اوایل این بیماری سایر پاسخ‌ها و مکانیسم‌های اجرایی طبیعی می‌باشند. با افزایش سن فرد مبتلا به WAS، عفونت‌های راجعه باکتریایی و کاهش تدریجی پاسخ‌های هومورال و سلولی به چشم می‌خورد. این سندرم شامل ترومبوسایتوپنی (شمارش کاهش یافته پلاکت‌ها؛ پلاکت‌های کوچکتر از طبیعی و نیمه عمر کوتاه)،بوده که می‌تواند به خونریزی کشنده منجر گردد. اگزما (راش‌های پوستی) در درجات مختلف شدت نیز می‌تواند رخ دهد که معمولاً در حدود سن یک سالگی آغاز می‌شود. در WAS نقص مربوط به بازوی کوتاه کروموزوم X بوده و ژن کد کننده یک گلیکوپروتئین اسکلت سلولی موجود در سلول‌های لنفاوی به نام سیالوفورین[2] (CD43) درگیر می‌باشد. پروتئین WAS به منظور اجتماع ریزرشته‌های اکتین جهت تشکیل میکرووزیکول‌ها ضروری می‌باشد.

- نقص پذیرنده اینترفرون گاما

نقص در پذیرنده اینترفرون گاما، نوعی از نقص ایمنی است که در طبقه سلول‌های مختلط قرار می‌گیرد. این نقص در بیمارانی که از عفونت با مایکوباکتریوم‌های آتیپیک رنج می‌برند، دیده می‌شود (ارگانیسم‌های داخل سلولی که با عوامل ایجاد کننده سل و جذام ارتباط دارند). اکثر افرادی که این صفت اتوزومال مغلوب را حمل می‌کنند، دارای سابقه ازدواج‌های فامیلی هستند. استعداد ابتلا به عفونت با مایکوباکتری‌ها در این افراد به صورت انتخابی بوده و افرادی که از این عفونت‌ها زنده بمانند، به صورت غیر معمول به سایر عوامل درون

1-Wiskott-Aldrich Syndrome (WAS)
2-Sialophorin

www.bbooks.ir

سلولی حساس نمی‌باشند. این نقص ایمنی، بـه نقـش اختصاصـی IFN-γ و پذیرنـده‌اش در محافظت در برابر عفونت با مایکوباکتریوم‌ها اشاره دارد. آنالیز جزئیـات بیمـاران مبـتلا بـه عفونت‌های مایکوباکتربومی ، نقص در پذیرنده IL-2 را نیز هماننـد پذیرنـده IFN-γ نشـان می‌دهد. چنین پیشگویی را می‌توان در مورد نقایص مسیر NFkB که مانع از نسخه‌بـرداری ژن‌های IFN-γ می‌شوند نیز مطرح کرد. یک نقص پیچیده‌تر که درگیر کننده رنگدانـه‌هـای پوست و دندان بوده و همراه با عفونت مایکوباکتریایی دیده می‌شود، در بیمـارانی کـه دارای نقایصی در زیر واحد پروتئنی IKK به نام NEMO هستند،به چشم می‌خورد. به یاد آوریـد که IKK، رهاسازی NF-kB از مهار کننده‌اش را میانجی‌گری کرده که باعث مهـاجرت آن به هسته و فعال کردن ژن‌های پاسخ ایمنی می‌گردد.

در حالی که SCID و نقایص مرکـب مربـوط بـه آن، بـر روی سـلول‌هـای T یـا تمـامی سلول‌های لنفاوی اثر می گذارند، سایر نقایص ایمنی اولیه بر روی عملکرد سلول‌های B تأثیر داشته که منجر به کاهش یا غیاب برخی یا تمام کـلاس‌هـای ایمونوگلبـولین مـی‌شـوند. بـا وجودی که نقایص زیر بنایی برخی از این موارد شناسایی شده‌اند، ولی به نظر می‌رسد که در تعدادی از نقایص شایع‌تر مانند نقص ایمنی شایع متغیر و کمبود انتخـابی IgA چنـدین ژن دخالت داشته باشند.

- آگاماگلبولنیمی وابسته به جنس

یک نقص سلول B به نام آگاماگلبولنیمی وابسته به جنس (X-LA) یا هایپوگامـاگلبولنیمی بروتون با سطوح بسیار پـایین IgG و غیـاب سـایر کـلاس‌هـای ایمونوگلبـولین مشـخص می‌شود. افراد مبتلا به X-LA فاقد هیچ‌گونـه سـلول B محیطـی بـوده و از عفونـت‌هـای باکتریایی عود کننده که در حدود سن ۹ ماهگی شروع می‌شوند،رنج می‌برند. یک درمـان تسکین دهنده برای این حالت، تجویز دوره‌ای ایمونوگلبولین می‌باشد ولی، بیماران به ندرت تا سنین نوجوانی زنده می‌مانند. در این ناهنجاری، نقصی در یک مولکول انتقال دهنده پیـام

www.bbooks.ir

به نام تیروزین کیناز بروتون (Btk) وجود دارد. سلول‌های B در بیماران مبتلا به X-LA ، درمرحله Pre-B با زنجیره‌های H بازآرایی شده باقی می‌مانند، ولی ژن‌های زنجیره L در ردهٔ زایا قرار داشته و از این مرحله فراتر نمی‌روند.

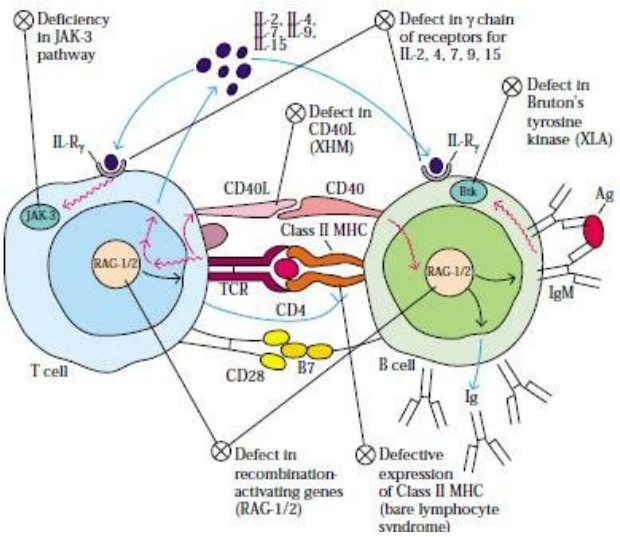
- سندرم هایپر IgM وابسته به جنس(XHM)

یک نقص ایمونوگلبولین عجیب که در ابتدا تصور می شد که در نتیجه نقص سلول‌های B باشد، اما اخیراً نشان داده شده که از نقصی درمولکول سطحی سلول T حاصل می‌شود. سندرم هایپر IgM وابسته به جنس با کمبود IgG ، IgA، IgE و مقادیر افزایش یافته IgM که گاهی تا ۱۰ mg/ml می‌رسد (مقدار طبیعی IgM ۱/۵mg/ml می‌باشد)، مشخص می‌شود. با وجودی که افراد مبتلا به XHM ، تعداد طبیعی از سلول‌های B بیان کننده IgM و IgD غشایی را دارند، ولی فاقد سلول‌های B بیان کنندهٔ IgE, IgA, IgG می‌باشند. سندرم XHM معمولاً به صورت یک اختلال مغلوب وابسته به جنس به ارث می رسد (شکل ۲-۲۰)، ولی به نظر می‌رسد برخی اشکال آن به صورت اکتسابی بوده و هر دوجنس را تحت تأثیر قرار دهد. افراد مبتلا دارای شمارش بالای پلاسماسل‌های ترشح کنندهٔIgM در خون محیطی و بافت‌های لنفاوی خود هستند. علاوه براین، بیماران XHM دارای مقادیر بالای اتوآنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز، پلاکت‌ها و نوتروفیل‌های خود نیز می‌باشند. کودکان مبتلا به XHM از عفونت‌های عود کننده، خصوصاً عفونت‌های تنفسی رنج می‌برندکه شدت این عفونت‌ها از آنهایی که بدلیل کاهش مقادیر ایمونوگلبولین ایجاد می‌شوند، بیشتر می‌باشد.

نقص XHM مربوط به ژن کد کننده لیگاند CD40 (CD40Lیا CD125) بوده که بر روی کروموزوم x واقع شده است. سلول‌های T_H بیماران XHM قادر به بیان مولکول CD40Lعملکردی بر سطح غشای خود نمی‌باشند. و از آنجایی که میانکنش بین CD40 سلول‌های B و CD40L سلول‌های T_Hبرای فعال‌سازی سلول‌های B ضروری می‌باشد، غیاب

www.bbooks.ir

این پیام کمک تحریکی مانع از پاسخ سلول‌های B به آنتی‌ژن‌های وابسته به T می‌گردد (شکل ۱۲-۱۱). هر چند که در این بیماری پاسخ سلول‌های B به آنتی‌ژن‌های مستقل از T، تحت تأثیر قرار نگرفته و علیه آنها IgM تولید می‌شود. همان طور که در فصل ۱۱ بیان شد، تغییر کلاس و تشکیل سلول‌های B خاطره‌ای ، مستلزم تماس با سلول‌های T_H بواسطه میانکنش CD40-CD40L بوده و در XHM بدلیل غیاب این میانکنش، تغییر کلاس به ایزوتایپ‌های IgE, IgA, IgG و همچنین تولید سلول‌های B خاطره‌ای با مشکل مواجه می‌شود. علاوه بر آن، بیماران XHM قادر به ایجاد مراکززایشی هنگام پاسخ‌های هومورال نبوده که نشان دهندهٔ نقش میانکنش CD40-CD40L در شکل‌گیری مراکز زایشی می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۴-۲۰ نشان داده شده، در نقایص ایمنی لنفوئید، نقص در میانکنش‌های سلول شایع می‌باشد.



شکل ۴-۲۰: انواع نقایص برهمکنش سلولی و پیام رسانی می توانند به نقص ایمنی منجر گردند.

www.bbooks.ir

- نقص ایمنی شایع متغیر[1] (CVI)

CVI با کاهش شدید پلاسماسل‌های تولید کننده آنتی‌بادی، کاهش اکثر ایزوتایپ‌های ایمونوگلبولین (هایپوگاماگلبولینمی) و عفونت‌های راجعه مشخص می‌شود. این حالت نسبت به سایر نقایص در مراحل دیرتری اززندگی رخ داده و گاهی اوقات با نام هایپوگاماگلبولینمی تأخیری و یا به اشتباه ، هایپوگاماگلبولینمی اکتسابی خوانده می‌شود. در حالی که CVIیک جزء ژنتیکی داشته و یک نقص ایمنی اولیه قلمداد می‌شود، ولی الگوی دقیق توارث آن شناخته نشده است. بدلیل تشابه زیاد این ناهنجاری با هایپوگاماگلبولینمی اکتسابی،معمولاً این دو شکل با یکدیگر اشتباه می‌شوند. عفونت‌های مبتلایان به CVI، اغلب باکتریایی بوده و می‌توانند با تجویزایمونوگلبولین، کنترل شوند. در بیماران CVI ، سلول‌های B در پاسخ به پیام‌های تمایزی مناسب، قادر به بالغ شدن و تبدیل به پلاسماسل نمی‌باشند. نقص اصلی در CVI شناخته نشده است ولی می‌بایست انسدادی در مسیر بلوغ سلول‌های B به پلاسماسل‌ها در شرایط in vivo یا عدم توانایی آنها در تولید اشکال ترشحی آنتی‌بادی‌ها وجود داشته باشد.

- سندرم هایپر IgE (سندرم جاب)

یک نقص ایمنی اولیه بوده که با آبسه‌های پوستی، پنومونی عود کننده، اگزما و مقادیر بالای IgE مشخص می‌شود و با ناهنجاری‌های صورت و شکنندگی استخوانها همراه می‌باشد. این اختلال چندگانه به صورت اتوزومال غالب به ارث رسیده و بیان متغیری دارد. ژن سندرم جاب یا HIES بر روی کروموزوم ۴ واقع شده است. علائم ایمونولوژیک HIES شامل عفونت‌های راجعه و ائوزینوفیلی به علاوه مقادیر بالای IgE می‌باشد.

1-common variable immunodeficiency

www.bbooks.ir

- کمبود انتخابی کلاس‌های ایمونوگلبولین

تعدادی از حالات نقص ایمنی بوده که با مقادیر کاهش یافته ایزوتایپ‌های ایمونوگلبولین اختصاصی مشخص می‌شوند و در میان آنها کمبود IgA شایع‌ترین مورد می‌باشد. اطلاعات مرتبط با خانواده نشان می‌دهند که کمبود IgA برخی اوقات، همراه با CVI در یک خانواده بروز می‌کند که پیشنهاد دهندهٔ وجود ارتباط بین این حالات می‌باشد. طیف علائم بالینی کمبود IgA گسترده می‌باشد؛ بسیاری از مبتلایان فاقد علامت بوده، درحالی که بقیه از یک سری مشکلات جدی رنج می‌برند. عفونت‌های راجعه مجاری تنفسی و ادراری – تناسلی در نتیجه کمبود IgA ترشحی در سطوح مخاطی، شایع می‌باشند. علاوه بر آن، مشکلاتی مانند سؤ جذب روده‌ای ، بیماری‌های آلرژیک و اختلالات خود ایمنی نیز می‌توانند با مقادیر کم IgA ارتباط داشته باشند. دلایل تنوع حالات بالینی کمبود IgA مشخص نمی‌باشد ولی ممکن است به علت جایگزینی IgM به عنوان آنتی‌بادی مخاطی توسط برخی از بیماران باشد. نقص کمبود IgA، با عدم توانایی سلول‌های B عرضه کننده IgA در تمایز طبیعی به پلاسماسل‌های ترشح کننده IgA مرتبط می‌باشد. در بیماران مبتلا به کمبودIgA، زیر کلاس‌های IgG مانند IgG2 و IgG4 نیز ممکن است با کمبود مواجه شوند، در حالی که مولکول‌های IgA سطحی این بیماران، به صورت طبیعی بیان می‌شوند. به نظر می‌رسد که ژن یا ژن‌هایی خارج از مجموعه ژنی‌ایمونوگلبولین، مسئول این سندرم نسبتاً شایع می‌باشند. کمبودهای ایمونوگلبولینی دیگری نیز گزارش شده اند ولی نادر می‌باشند. کمبود IgM به عنوان یک صفت اتوزومال مغلوب شناخته می‌شود. قربانیان این حالت، در معرض عفونت شدید با عواملی مثل مننگوکوک بوده که منجر به بیماری کشنده می‌شود. کمبود IgM ممکن است با بدخیمی‌های مختلف یا بیماری‌های خود ایمن همراه باشد. کمبودهای IgG نیز نادر می‌باشند. این حالات معمولاً تا سنین بلوغ شناخته نمی‌شوند و با تجویز ایمونوگلبولین به صورت مؤثری درمان می‌شوند.

www.bbooks.ir

- آتاکسی تلانژکتازی[1]

با وجودی که آتاکسی تلانژکتازی در ابتدا به عنوان نقص ایمنی شناخته نمی‌شد ولی این سندرم با کمبود IgA و برخی مواقع IgE همراه می‌باشد. این سندرم با اشکال در حفظ تعادل (آتاکسی) و شکنندگی عروقی (تلانژکتازی) چشم مشخص می‌شود. به نظر می‌رسد که نقص اولیه در این بیماری مربوط به کیناز دخیل در تنظیم چرخه سلولی باشد. ارتباط میان نقص ایمنی و سایر نقایص آتاکسی تلانژکتازی مشخص نمی‌باشد.

- ناهنجاری‌های ایمنی که تیموس را درگیر می‌کنند

سندرم‌های نقص ایمنی متعددی در اثر نقص تکاملی تیموس ایجاد می‌شوند. نقایص عملکردی تیموس، اثر شدیدی بر عملکرد سلول‌های T دارند و تمامی جمعیت‌های سلول T شامل: کمک کننده، سیتوتوکسیک و تنظیمی تحت تاثیر قرار می‌گیرند. در افرادی که از این حالات رنج می‌برند، ایمنی در برابر ویروس‌ها و قارچ‌ها تضعیف می‌گردد.

سندرم دی‌جرج[2] یا آپلازی ارثی تیموس در شدیدترین شکل خود به صورت غیاب کامل تیموس تظاهر می‌یابد. این نقص تکاملی، با حذف قسمتی ازکروموزوم ۲۲ در دوران جنینی مرتبط بوده که منجر به نقص ایمنی همراه با ناهنجاری‌های صورتی، هایپوپاراتیروئیدیسم و بیماری مادرزادی قلب می‌گردد (شکل ۵-۲۰).

1-ataxia telangiectasia
2-Digeorge syndrome

www.bbooks.ir

شکل ۵-۲۰: کودک مبتلا به سندرم دی جرج که مشخصات دیس پلازی گوش و دهان و فاصله غیرطبیعی بین چشم ها را نشان می دهد.

مرحله‌ای که نقص تکاملی در آن رخ می‌دهد، شناسایی شده و این سندرم برخی اوقات با نام سندرم کیسه حلقی سوم و چهارم خوانده می‌شود که منشأ دقیق جنینی آن را نشان می‌دهد. نقص ایمنی شامل سرکوب شدید تعداد سلول‌های T و غیاب پاسخ‌های سلول T می‌باشد. با وجودی که تعداد سلول‌های B طبیعی می‌باشد ولی افراد مبتلا در پاسخ به ایمونیزاسیون با آنتی‌ژن‌های اختصاصی، آنتی‌بادی تولید نمی‌کنند. پیوند تیموس به منظور تصحیح نقایص سلول T از ارزش نسبی برخوردار می‌باشد ولی تعداد زیادی از بیماران مبتلا به سندرم دی‌جرج دارای چنان بیماری قلبی شدیدی هستند که حتی با تصحیح نقایص ایمنی نیز شانس اندکی برای بقای طولانی مدت دارند.

با وجودی که سندرم دی‌جرج از یک آنومالی درون رحمی یا تکاملی نشأت می‌گیرد، ولی هایپوپلازی‌تیموس یا سندرم نزلوف[1] یک ناهنجاری‌ارثی بوده که چگونگی توارث آن شناخته نشده و تظاهرات متغیر آن نیز تشخیص این بیماری را با مشکل مواجه می‌کند. همان‌طور که از نام آن پیداست، هایپوپلازی‌تیموس نقصی است که در آن، بقایای تیموس قادر به انجام عمل خود در تکامل سلول‌های T نمی‌باشد. در برخی از بیماران سلول‌های B طبیعی

1-Nezelof syndrome

www.bbooks.ir

بوده، در حالی که در بقیه موارد، نقص سلول B نیز در پی نقص سلول T دیده می‌شود. افراد مبتلا از اسهال مزمن ، عفونت‌های ویروسی و قارچی و نقص عمومی رشد رنج می‌برند.

- نقایص ایمنی رده میلوئید، ایمنی ذاتی را تحت تاثیر قرار می‌دهند

نقایص ایمنی رده لنفوئید، ایمنی اکتسابی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در طرف مقابل، نقایص رده سلولی میلوئید عملکردهای ایمنی ذاتی را متأثر می‌سازد (شکل ۱-۲۰) . اکثر این نقایص منجر به تضعیف روندهای فاگوسیتی می‌گردند که با عفونت‌های راجعه میکربی همراه می‌باشند. روندهای فاگوسیتی ممکن است در سطوح مختلفی مانند حرکت سلولی، چسبندگی و فاگوستیوز ارگانیسم و کشتن بواسطه ماکروفاژها دچار نقص گردند.

- کاهش شمارش نوتروفیل‌ها

همان‌طور که در فصل ۲ شرح داده شد، نوتروفیل‌ها، گرانولوسیت‌های درگردشی هستند که دارای عملکرد فاگوستی می‌باشند. نقایص کمی نوتروفیل‌ها از غیاب کامل آنها که آگرانولوسیتوز نام داشته تا کاهش در غلظت نوتروفیل‌های خون محیطی به کمتر از ۱۵۰۰/mm^3 که گرانولوسیتوپنی خوانده می‌شود، متغیر می‌باشند. این نقایص کمی ممکن است. در نتیجه مشکلات مادرزادی یا بواسطه عوامل خارجی ایجاد شوند. نوتروپنی‌های اکتسابی به مراتب شایع‌تر از نوتروپنی‌های مادرزادی می‌باشند.

نوتروپنی مادرزادی اغلب به دلیل نقایص ژنتیکی که بر روی سلول‌های بنیادی ردهٔ میلوئید تاثیر دارند، ایجاد می‌شود و منجربه کاهش تولید نوتروفیل‌ها طی خونسازی می گردد. در آگرانولوسیتوز مادرزادی ، سلول‌های بنیادی میلوئید در مغز استخوان حضور دارند ولی به ندرت تامرحله پرومیلوسیتی تمایز می یابند. در نتیجه، نوزادان متولد شده در این شرایط دارای نوتروپنی شدید و شمارش نوتروفیل کمتر از ۲۰۰ نوتروفیل در هر میلی‌متر مکعب می‌باشند. این کودکان در اولین ماه زندگی خود از عفونت‌های متناوب باکتریایی رنج

www.bbooks.ir

می‌برند، در حالی که نوزادان طبیعی در این سن بواسطه آنتی‌بادی‌های مادری و همچنین مکانیسم‌های ایمنی ذاتی مثل نوتروفیل‌ها، محافظت می‌شوند. شواهد تجربی نشان می‌دهند که این نقص ژنتیکی منجر به کاهش تولید G-CSF و در نتیجه نارسایی سلول بنیادی میلوئید در تمایز به رده گرانولوسیت می‌گردد (شکل ۱-۲).

نوتروفیل‌ها طول عمر کوتاهی داشته و پیش‌سازهای آنها می‌بایست به سرعت در مغز استخوان تقسیم شوند تا سطوح کافی این سلول‌ها در گردش خون حفظ شود. به این دلیل عواملی مثل اشعه و داروهای خاص (مانند داروهای شیمی‌درمانی) که به صورت اختصاصی بر سلول‌های به سرعت تقسیم شونده آسیب می‌رسانند، احتمالاً منجر به نوتروپنی می‌شوند. گهگاه در بیماری خود ایمن مثل سندرم شوگرن یا لوپوس اریتماتوز سیستمیک نیز نوتروپنی دیده می‌شود. در این شرایط، اتوآنتی‌بای‌ها نوتروفیل‌ها را تخریب می‌کنند. نوتروپنی گذرا اغلب پس از عفونت‌های ویروسی یا باکتریایی خاصی بوجود می‌آید، ولی با برطرف شدن عفونت شمارش نوتروفیل‌ها نیز طبیعی می‌شود.

- بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD)

CGD یک بیماری ژنتیکی است که حداقل به دو صورت جداگانه به چشم می‌خورد: یک شکل وابسته به جنس که در حدود ۷۰٪ موارد را به خود اختصاص می‌دهد و یک شکل اتوزومال مغلوب که شامل بقیه موارد می‌باشد. این بیماری در نتیجه نقص در مسیر اکسیداتیو می‌باشد که فاگوسیت‌ها به وسیلهٔ آن ، پراکسید هیدروژن و محصولات واکنشی حاصله مثل اسیدهیپوکلرو (HOCL) را تولید می کنند و باکتری‌ها فاگوسیت شده را می‌کشند. مبتلایان به CGD دستخوش واکنش‌های التهابی شدید گشته که منجر به التهاب لثه‌ها، تورم غدد لنفاوی و گرانولوماهای غیر بدخیم می‌گردد. آنها همچنین به عفونت‌های باکتریایی و قارچی حساس می‌باشند. بیماران CGD مخصوصاً در معرض عفونت توسط باکتری‌هایی مانند پنوموکوک که پراکسید هیدروژن تولید می‌کنند، قرار ندارند. در این

www.bbooks.ir

مورد، میلوپراکسیداز سلول میزبان، از پراکسیدهیدروژن باکتریایی استفاده کرده و اسید هیپوکلروی لازم برای خنثی کردن عفونت را تولید می‌کند. چندین نقص مرتبط با هم می‌توانند به CGD منجر شوند که شامل فقدان یا نقص یک سیتوکروم (cyt b558) که در مسیر اکسیداتیو فعالیت دارد و نقص در یک پروتئین تثبیت کننده سیتوکروم (فاگوزوم اکسیداز یا phox) می‌باشند. علاوه بر نقص عمومی در عملکرد کشندگی فاگوسیت‌ها، در توانایی سلول‌های تک هسته‌ای به عنوان APC نیز کاهش دیده می‌شود و هم پردازش و هم عرضه آنتی‌ژن‌ها تضعیف می‌گردد. در صورت استفاده از سلول‌های تک هسته‌ای به عنوان APC در بیماران CGD ، جهت شروع فعالیت سلول‌های T کمکی به مقادیر بالایی از آنتی‌ژن نیاز می‌باشد.

افزودن IFN-γ در شرایط in vitro موجب بازگشت عملکرد منوسیت‌ها و گرانولوسیت‌های CGD می‌گردد. این مشاهدات ، موجب پیشبرد آزمایش‌های بالینی در زمینه استفاده از IFN-γ در بیماران CGD گردیده که باعث افزایش فعالیت اکسیداتیو و اصلاح سیتوکروم سیتوپلاسمی در آنها شده است. علاوه بر آن ، آگاهی از نقایص دقیق ژنی در CGD، آن را به عنوان کاندیدی برای ژن درمانی در آورده و جایگزین کردن سیتوکروم معیوب نتایج امیدوارکننده‌ای داشته است.

- سندرم چدیاک - هیگاشی[1]

این بیماری اتوزومال مغلوب با عفونت‌های راجعه باکتریایی ، آلبینیسم نسبی چشمی – پوستی (فقدان رنگدانه پوست و چشم) وارتشاح شدید و غیر بدخیم سلول‌های لنفاوی در اعضای بدن مشخص می‌شود. فاگوسیت‌های بیماران دارای این نقص ایمنی حاوی گرانول‌های غول پیکر بوده ولی قادر به کشتن باکتری‌ها نمی‌باشند. اساس مولکولی این نقص، جهش در یک پروتئین دخیل در تنظیم ترافیک داخل سلولی به نام LYST می‌باشد. این

1-Chediak-Higashi syndrome

www.bbooks.ir

جهش ، قرار گیری پروتئین‌ها در لیزوزوم های ترشحی را تخریب کرده و آنها را در کشتن باکتری‌ها ناتوان می‌سازد.

- نقص چسبندگی لوکوسیت‌ها[1] (LAD)

همان‌طور که در فصل ۱۳ توضیح داده شد، مولکول‌های سطحی که به خانواده اینتگرین‌ها تعلق دارند، پروتئین‌هایی هستند که به عنوان مولکول‌های چسبندگی عمل کرده و به منظور تسهیل میانکنش‌های سلولی ضروری می‌باشند. سه عضو از آنها به نام‌های LFA-1، Mac-1 و gp150/95 (به ترتیب CDlla ، bو c) دارای یک زنجیره بتای مشترک (CD18) بوده و بر روی سلول‌های منوسیتی مختلف حضور دارند؛ CDlla بر سطح سلول‌های B نیز بارز می‌شود. یک نقص ایمنی مرتبط با عدم عملکرد مولکول‌های چسبندگی مربوط به اختلال در زنجیره بتای مشترک می‌باشد که بیان هر سه مولکول را که از این زنجیره استفاده می‌کنند، تحت تاثیر قرار می‌دهد. این نقص، **نقص چسبندگی لوکوسیت** (LAD) نامیده می‌شود و موجب حساسیت به عفونت با باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت و نیز قارچ‌های مختلف می‌شود. اختلال در چسبندگی لوکوسیت‌ها به اندوتلیوم عروقی ، به خدمت گرفتن سلول‌ها را در جایگاههای التهاب محدود می‌کند. ایمنی در برابر ویروس‌ها نیز تا حدی به دلیل نقص در همکاری بین سلول‌های B و T با اخلال مواجه می‌شود. شدت LAD متنوع بوده ، به صورتی که برخی از مبتلایان طی چند سال فوت کرده ، در حالی که سایرین تا دهۀ چهارم زندگی خود زنده می‌مانند. علت فنوتیپ متغیر این بیماری شناخته نمی‌باشد. LAD موضوع تمرکز بالینی فصل ۱۳ می‌باشد.

1-Leukocyte adhesion deficiency

www.bbooks.ir

- نقایص کمپلمان منجر به نقص ایمنی یا بیماری‌های مجموعه ایمنی می‌شوند

بیماری‌های نقص ایمنی حاصل از معایب سیستم کمپلمان در فصل ۷ شرح داده شدند. بسیاری از کمبودهای کمپلمان با افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌های باکتریایی و یا بیماری‌های مجموعه ایمنی ارتباط دارند. یکی از این اختلالات کمپلمان ، نقص در پروپردین بوده که موجب پایداری مبدل C3 در مسیر آلترناتیو کمپلمان گشته و بواسطه نقصی در ژن واقع بر روی کروموزوم x ایجاد می شود (شکل ۲-۲۰). نقایص لکتین متصل شونده به مانوز (MBL) موجب افزایش حساسیت در برابر انواع عفونت‌های قارچی و باکتریایی می‌شود. از فصل ۷ به یاد دارید که MBL یک شروع کننده مهم کمپلمان علیه بسیاری از پاتوژن‌ها بوده و یک جزء با اهمیت ایمنی ذاتی علیه بسیاری از ارگانیسم‌ها به حساب می‌آید.

- ناهنجاریهای نقص‌ایمنی با جایگزینی عنصر ناقص درمان می‌شوند

با وجودی که هیچ بهبودی در اختلالات نقص ایمنی وجود ندارد ولی امکان درمان در چندین مورد به چشم می‌خورد. علاوه بر روش مؤثر جداسازی کامل از برخورد با هرگونه عامل میکربی، درمان‌های انتخابی نقایص ایمنی شامل موارد زیر می‌باشند:

- جایگزینی پروتئین مفقود شده
- جایگزینی رده سلولی مفقود شده
- جایگزینی ژن ناقص یا مفقود شده

برای ناهنجاری‌هایی که تولید آنتی‌بادی‌ها را تخریب می‌کنند، روش کلاسیک درمان، تجویز پروتئین ایمونوگلبولین می‌باشد. ذخیره گاماگلبولین انسانی که به صورت داخل وریدی یا زیر پوستی تزریق شود، در بسیاری از انواع نقص ایمنی از عفونت‌های راجعه محافظت می‌کند. حفظ سطوح نسبتاً بالای ایمونوگلبولین (۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر سرم) مانع اکثر عفونت‌های شایع در بیماران مبتلا به آگاماگلبولینمی می‌شود. پیشرفت‌های اخیر در زمینه تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی و توانایی مهندسی

www.bbooks.ir

ژنتیک در طراحی آنتی‌بادی‌های کایمریک با نواحی متغیر موشی و نواحی ثابت انسانی، تولید آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه پاتوژن‌های مهم را امکان‌پذیر ساخته است (فصل ۵).

پیشرفت‌های بیولوژی مولکولی، کلون کردن ژن‌های پروتئین‌های مهم ایمونولوژیک مانند سایتوکاین‌ها و سپس بیان آنها در شرایط in vitro توسط سیستم‌های بیان باکتریایی یا یوکاریوتی را فراهم ساخته است. دسترسی به چنین پروتئین‌هایی، روش‌های جدید درمانی را که این پروتئین‌ها می‌توانند جایگزین شوند یا غلظتشان در بیمار افزایش یابد، ممکن می‌سازد. برای مثال ، تجویز IFN-γ نوترکیب برای بیماران مبتلا به CGD مؤثر بوده و استفاده از IL-2 نوترکیب به اصلاح عملکرد ایمنی در مبتلایان به ایدز کمک کننده می‌باشد. آدنوزین دآمنیاز نوترکیب نیز به صورت موفقیت‌آمیزی در بیماران مبتلا SCID و فاقد ADA مورد استفاده قرار گرفته است.

پیشرفت‌های اخیر در پیوند مغز استخوان، جایگزینی سلول را به عنوان درمان نقص ایمنی امکان‌پذیر ساخته است (فصل ۱۷). جایگزینی سلول‌های بنیادی توسط سلول‌های یک دهندهٔ صلاحیت دار ایمنی، موجب شکل‌گیری یک سیستم ایمنی عملکردی می‌گردد (تمرکز بالینی فصل ۲). میزان موفقیت این پیوند در بیماران خوش اقبالی که یک دهندهٔ یکسان از نظر HLA داشته باشند زیاد می‌باشد. دقت در سازگاری دهنده و گیرنده و توانایی غنی سازی سلول‌های بنیادی بوسیله انتخاب سلول‌های CD34+ خطر این روش را حتی زمانی که گیرنده ایده‌آل وجود نداشته باشد، به حداقل می‌رساند.

در صورتی که یک نقص ژنتیکی منفرد مانند کمبود آدنوزین دآمنیاز یا بیماری گرانولوماتوز مزمن شناسایی شود،جایگزینی ژن معیوب می‌تواند یک انتخاب درمانی باشد. آزمایشات بالینی چنین روش درمانی درمورد SCID ایجاد شده در اثر کمبود ADA و بیماری گرانولوماتوز مزمن با $P67^{Phox}$ معیوب، نتایج ابتدایی امید بخشی داشته‌اند و منجر به بهبودی ۱۸ ماهه SCID و بهبودی ۶ ماهه CGD گشته‌اند. در این دو آزمایش از یک روش یکسان استفاده شده است که با گرفتن سلول‌ها (معمولاً سلول‌های $CD34^+$ برای این

www.bbooks.ir

روش انتخاب می‌شوند) از بیماران آغاز می‌شود. سپس یک کپی سالم از ژن مورد نظر به این سلول‌ها انتقال داده شده و در نهایت این سلول‌ها دوباره به بیمار بازگردانده می‌شوند. با پیشرفت و اصلاح این روش درمانی، می‌توان آن را در تعدادی از بیماری‌های نقص ایمنی که نقایص ژنتیکی آنها به خوبی شناسایی شده‌اند، به کار برد. همان‌طور که در بالا اشاره شد، این حالات شامل: نقایص ژن‌های کد کننده زنجیره گامای پذیرنده IL-2، JAK-3، ZAP-70 می‌باشد که همگی به SCID منجر می‌شوند. همانند تمامی روش‌های درمانی، ژن درمانی بیماری‌های نقص ایمنی نیز با خطراتی همراه می‌باشد. در دو مورد، سلول‌های وارد شده به بدن بیمار به صورت کنترل نشده‌ای تکثیر یافتند و منجر به شکل‌گیری لوسمی در بیماران درمان شده SCID گشتند.

- مدل‌های تجربی نقص ایمنی شامل حیوانات تغییر یافته ژنتیکی هستند.

ایمونولوژیست‌ها از دو مدل حیوانی نقص ایمنی اولیه به منظور اهداف تجربی متنوع استفاده می‌کنند. یکی از آنها موش‌های فاقد تیموس یا برهنه[1] و دیگری موش‌های SCID می‌باشند. مطالعات اخیر بر روی موش‌های تغییر یافته ژنتیکی که در آنها یک ژن منفرد از کار افتاده است، اطلاعات دقیقی را در مورد نقش ژن‌های اختصاصی در مبارزه با عفونت در اختیار قرار می‌دهند.

- موش‌های برهنه (فاقد تیموس)

یک صفت ژنتیکی به نام nu که توسط یک ژن مغلوب بر روی کروموزوم ۱۱ کنترل می‌شود، در موش‌های خاصی کشف شد. موش‌های هموزیگوت (nu/nu) فاقد مو بوده و دارای تیموس تحلیل رفته می‌باشند.(شکل ۶-۲۰) و موش‌های هتروزیگوت (nu/+) دارای مو و تیموس می‌باشند.

1-nude

www.bbooks.ir

شکل ۶-۲۰: یک موش nude (nu/nu). این جهش موجب فقدان تیموس یا یک نقص ایمنی سلولی می شود.

این که فقدان مو و نقایص تیموس توسط ژن یکسانی ایجاد می‌شوند، مشخص نمی‌باشد. ممکن است که دو ژن بسیار نزدیک به هم که با یکدیگر نیز ارتباط ندارند، این نقایص را کنترل کنند. ممکن است ژنی که در تکامل مؤثر می‌باشد، در این حالت دخالت داشته باشد، زیرا مسیری که منجر به تکامل تیموس می‌گردد با مسیری که سلول‌های اپی‌تلیال پوست را کنترل می کند، مرتبط می‌باشد. موش‌های nu/nu نمی‌توانند به راحتی زنده بمانند؛ در شرایط طبیعی، میزان مرگ و میر طی ۲۵ هفته ۱۰۰٪ بوده و ۵۰٪ نیز طی دو هفته اول پس از تولد می‌میرند. به همین دلیل، هنگامی که این حیوانات به منظور اهداف تجربی مورد آزمایش قرار می‌گیرند، می بایست تحت شرایطی نگهداری شوند تا از عفونت محافظت گردند. این اقدامات شامل استفاده از غذاهای استریل و همچنین آب، قفس و بستر ضد عفونی شده می‌باشند. محافظت قفس‌ها از گردو غبار بواسطه فیلترهای هوایی که در بالای هر قفس نصب می‌شوند، صورت می‌گیرد.

موش‌های برهنه فاقد پاسخ‌های ایمنی سلولی بوده و قادر به ساختن آنتی‌بادی علیه بسیاری از آنتی‌ژن‌ها نیز نمی‌باشند. با انجام عمل پیوند تیموس می‌توان نقص ایمنی موش‌های برهنه را مرتفع ساخت. بدلیل این که موش‌های برهنه بصورت موقت قادر به تحمل آلوگرانت و گزنوگرافت می‌باشند، دارای کاربردهای تجربی زیادی هستند. به عنوان مثال، هیبریدوماها یا تومورهای توپر با هر منشأیی می‌توانند به عنوان تومورهای پیوندی در یک موش برهنه رشد داده شوند. مشخص شده که موش‌های برهنه به طور کامل فاقد سلول‌های Tنبوده و در عوض دارای جمعیت محدودی می باشند که با افزایش سن ،

www.bbooks.ir

افزایش می‌یابد . منشأ این سلول‌های T شناخته نشده است ولی یک احتمال وجود دارد که آنها دارای منشأ خارج تیموس باشند. هر چند که شکل‌گیری آنها از بقایای تیموس، از احتمال بیشتری برخوردار است. اکثر سلول‌های موجود در گردش خون موش‌های برهنه، به جای پذیرنده سلول T نوع $\alpha\beta$ که شکل غالب این پذیرنده در موش‌های طبیعی می‌باشد، پذیرنده نوع $\gamma\delta$ را حمل می‌کنند.

- موش SCID

در سال ۱۹۸۳ ملوین[1]، بوسما[2] و همکارانشان جهش مغلوب اتوزومی را در موش‌ها شرح دادند که منجر به نقص شدید در لنفوسیت‌های بالغ می‌شد. آنها به دلیل شباهت این صفت با نقص ایمنی مرکب شدید انسانی آن را SCID نام نهادند. موش‌های SCID در صورت دریافت پیوند سلول‌های بنیادی از موش‌های طبیعی ، می‌توانند صلاحیت ایمنی خود را کسب کنند.

جهش ژنتیکی یک پروتئین کیناز DNA که موجب SCID می‌گردد، به اصطلاح یک جهش نشتی[3] خوانده می‌شود، زیرا تعدادی از موش‌های SCID قادر به تولید ایمونوگلبولین می‌باشند. حدود نیمی از این موش های SCID نشتی نیز قادر به رد پیوند آلوگرافت پوست می‌باشند. این یافته، پیشنهاد می‌کند که آنزیم ناقص قادر خواهد بود که به صورت جزئی در تکامل سلول‌های B و T دخالت کرده و تمایز طبیعی درصد کمی از سلول‌های B و T را امکان پذیر سازد. اخیراً با حذف آنزیم‌های RAG-1 و RAG-2 که مسئول بازآرایی ژن‌های ایمونوگلبولین و پذیرنده سلول T در پیش‌سازهای سلول B و T می‌باشند، موش‌های نقص ایمنی شبه SCID ایجاد شده‌اند. موش‌های فاقد RAG در هر دو سلول B و T دچار نقص بوده و هیچ کدام قادر به بازآرایی پذیرنده‌هایشان نبوده و در امتداد مسیر طبیعی تکامل

1-melvin
2-G-Basma
3-leaky mutation

www.bbooks.ir

خود پیش نمی‌روند. بدلیل این که سلول‌های دچار بازآرایی نابجا در شرایط in vitro حذف می‌شوند، در موش‌های فاقد RAG هیچ یک از سلول‌های B و T در اعضای لنفاوی حضور ندارند.

- ایدز و سایر نقایص ایمنی ثانویه یا اکتسابی

همان‌طور که در بالا شرح داده شد، بسیاری از نقایص سیستم ایمنی به کمبود ایمنی منجر می‌شوند. علاوه بر نقایص ایمنی اولیه، نقایص ایمنی ثانویه نیز وجود دارند که یک مورد از آنها، هیپوگاماگلبولینمی اکتسابی می‌باشد. (همان‌طور که در بالا اشاره شد، این حالت گاهی اوقات با نقص ایمنی شایع متغیر که منشأ ژنتیکی دارد اشتباه می‌شود). منشأ هیپوگاماگلبولینمی اکتسابی شناخته نشده و نشانه اصلی آن که عفونت راجعه می‌باشد در بالغین جوان تظاهر می‌یابد. بیماران معمولاً مقادیر پایین ولی قابل ردیابی ایمونوگلبولین را دارا می‌باشند. تعداد و عملکرد سلول‌های T ممکن است طبیعی باشد، اما مواردی نیز با نقص سلول‌های T همراه بوده که با پیشرفت بیماری شدیدتر می‌گردد. بیماری معمولاً با درمان ایمونوگلبولین، درمان می‌شود و تادهه‌های هفتم و هشتم زندگی به بیماران امکان زنده‌ماندن را می‌دهد. برخلاف نقایص ایمنی شرح داده شده، هیچ مدرکی دال بر انتقال ژنتیکی این بیماری وجود ندارد. مادران مبتلا به هیپوگاماگلبولینمی اکتسابی، نوزادان طبیعی را به دنیا می‌آورند. هرچند که در هنگام تولد، نوزادان از لحاظ ایمونوگلبولین‌های در گردش با کمبود مواجه می‌باشند، زیرا کمبود در گردش خون مادری در نوزاد انعکاس می‌یابد.

شکل دیگر نقص ایمنی ثانویه که با نام نقص ایمنی القا شده در اثر ماده شناخته می‌شود، در نتیجه برخورد با تعدادی از عوامل شیمیایی و بیولوژیکی که حالت نقص ایمنی را القا می‌کنند، ایجاد می‌شود. اکثر این مواد داروهای مورد استفاده جهت مقابله با بیماری‌های خود ایمن مثل آرتریت روماتوئید و لوپوس اریتماتوز هستند. کورتیکواستروئیدها که معمولاَ در اختلالات خود ایمن به کار می‌روند، به منظور تسکین علائم بیماری با پاسخ‌های ایمنی

www.bbooks.ir

مداخله می‌کنند. همین حالت در بیماران پیوندی نیز مشاهده می‌شود که به آنها داروهای سرکوب کننده ایمنی مثل سایکلوسپورین A داده می‌شود تا از حمله سیستم ایمنی به بافت پیوند شده جلوگیری شود. همان‌طور که در فصل ۱۷ توضیح داده شد، اخیراً تلاش‌هایی در زمینه استفاده از روش‌های القای تحمل اختصاصی‌تر در برابر پیوند آلوژن به منظور غلبه بر عوارض جانبی عمومی سرکوب ایمنی صورت گرفته است. با وجودی که سلول‌های T اهداف اصلی داروهای سرکوبگر ایمنی می باشند، مکانیسم‌های عملکرد این مواد متفاوت می باشند. علاوه بر آن، داروهای سیتوتوکسیک و پرتودرمانی که به منظور درمان اشکال مختلف سرطان استفاده می‌شوند، گهگاه به سلول‌های در حال تقسیم موجود در بدن، مانند سلول‌های سیستم ایمنی آسیب رسانده و به عنوان یک پیامد ناخواسته منجر به القای یک حالت نقص ایمنی می‌گردند. در صورت ظاهر شدن عفونت، بیماران تحت چنین درمانی می‌بایست به دقت مورد پایش و بررسی قرار گرفته و با آنتی‌بیوتیک درمان شوند.

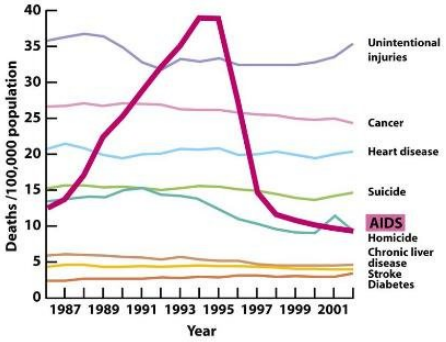
- HIV/ ایدز جان میلیون‌ها نفر را در سرتاسر جهان تهدید می‌کند.

در سال‌های اخیر، تمامی اشکال نقص ایمنی در زیر سایه یک نقص ایمنی شدید که توسط یک عامل عفونی به نام **ویروس نقص ایمنی انسانی**[1] **-۱ (HIV-1)** ایجاد می‌شود،قرار گرفته‌اند. بیماری ایجاد شده توسط HIV-1 ، **سندرم نقص ایمنی اکتسابی (ایدز)** نام داشته که اولین بار در سال ۱۹۸۱ در لس‌آنجلس، نیویورک، سانفراسیسکو در ایالات متحده گزارش گردید. گروهی از بیماران به عفونت‌های غیر معمول مثل پنومونی ناشی از قارچ فرصت طلب پنوموسیستس کارینی (PCP) دچار می‌شوند. علاوه بر PCP، برخی بیماران به سارکوم کاپوسی که یک تومور بسیار نادر پوست می‌باشد و همچنین سایر عفونت‌های فرصت طلب نادر مبتلا می‌شوند. ارزیابی کامل‌تر بیماران نشان می‌دهد که آنها دارای نقص آشکاری در پاسخ‌های ایمنی سلولی و کاهش قابل ملاحظه‌ای در زیر رده‌ای از جمعیت

1-Human Immunodeficiency virus1- (HIV-1)

www.bbooks.ir

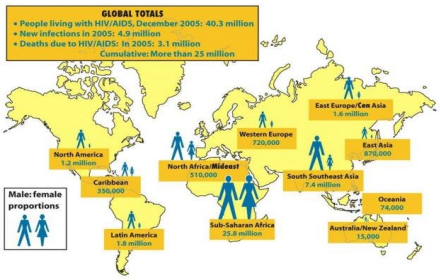
سلول‌های T که شاخص CD4 را حمل می‌کنند، هستند. بررسی پیشینه اولین بیماران مبتلا شده به این بیماری جدید توسط اپیدمیولوژیست‌ها مشخص ساخت که اکثریت آنها را مردان همجنس‌گرا تشکیل می‌دادند. با افزایش تعداد موارد ایدز و شناخته شدن بیماری در سراسر جهان، مشخص شد که افراد پر خطر شامل مردان همجنس‌گرا، افراد غیر همجنس‌گرای بی قید در امور جنسی و شرکای آنها، معتادین تزریقی ، افرادی که قبل از سال ۱۹۸۵ خون یا فرآورده‌های خونی دریافت کرده بودند و نوزادان متولد شده از مادران HIV مثبت می‌باشند. از زمان کشف ایدز در سال ۱۹۸۱ ، این بیماری به صورت اپیدمی در جهان شروع به گسترش کرد به شکلی که در دسامبر سال ۲۰۰۴، مجموع موارد مرگ گزارش شده در ایالات متحده در اثر ایدز به ۵۲۴۰۰۰ نفر رسید و در سال ۲۰۰۵ حدود یک میلیون نفر به عفونت HIV مبتلا می‌باشند. با وجودی که گزارش موارد ایدز در ایالات متحده اجباری می‌باشد، بسیاری از ایالت‌ها تا زمانی که عفونت HIV به صورت ایدز در نیامده اقدام به گزارش این موارد نمی‌کنند که این مورد منجر به شمارش افراد مبتلا به HIV به صورت تخمینی می‌گردد. با وجودی که به علت درمان‌های پیشرفته، میزان مرگ و میر ناشی از ایدز در سال‌های اخیر کاهش یافته است، ولی ایدز هنوز از علل اصلی مرگ و میر افراد بین سنین ۲۵ تا ۲۴ سال در این کشور می‌باشد (شکل ۷-۲۰).



شکل ۷-۲۰: میزان مرگ و میر ناشی از ۵ عامل مرگ و میر در افراد با سن ۴۴-۲۵ سال در ایالات متحده در سال های ۱۹۸۷ تا ۲۰۰۴.

www.bbooks.ir

گسترش جهانی ابتلای به ایدز در شکل ۸-۲۰ نشان داده شده است.



شکل ۸-۲۰: اپیدمی جهانی ایدز. توزیع جهانی موارد ایدز در دسامبر ۲۰۰۵ حدود ۴۰/۳ میلیون نفر آلوده به ایدز و اکثراً ساکن آفریقا و آسیای جنوبی می باشند. در آمریکای جنوبی و اروپای غربی ۷۵٪ افراد آلوده را زنان تشکیل می دهند؛ در حالی که این عدد در مورد آفریقا ۵۷٪ می باشد.

در جنوب صحرایی آفریقا، حدود ۲۵/۸ میلیون نفر به ایدز مبتلا می‌باشند، و این تخمین در مورد آسیای جنوبی و جنوب شرقی حدود ۷/۴ میلیون نفر می‌باشد. در سراسر جهان حدود ۴۰/۳ میلیون نفر به ایدز مبتلا هستند که ۲/۳ میلیون نفر آنها را کودکان کمتر از ۱۵ سال تشکیل می‌دهند. علاوه بر آن، میلیون‌ها کودک نیز به دلیل مرگ والدینشان در اثر ایدز،یتیم شده‌اند. تخمین‌های اخیر سازمان بهداشت جهانی نشان می‌دهند که در سال ۲۰۰۵ ، ۴/۵ میلیون عفونت جدید HIV رخ خواهد داد و یا روزانه حدود ۱۳۵۰۰ نفر به این عفونت مبتلا خواهند شد.

اولین گروه مبتلا به ایدز در ایالات متحده و اروپای غربی غالباً مردان سفید پوست بودند. اگر چه در این مناطق، گروه آلوده شامل همین موارد می‌باشد، ولی به تازگی این توزیع در ایالات متحده به سوی زنان سوق پیدا کرده و تعداد مردان و سفیدپوستان کاهش یافته است. در سراسر جهان تعداد موارد ایدز زنان و مردان برابر بوده و در جنوب صحرای آفریقا که بیشترین موارد ابتلا به ایدز را به خود اختصاص داده، بیش از نیمی از افراد مبتلا را زنان تشکیل می‌دهند.

www.bbooks.ir

- HIV-1 توسط تماس جنسی، خون آلوده و از مادر به جنین منتقل می‌شود

با وجودی که مکانیسم دقیق آلوده سازی افراد توسط HIV-1 شناخته نشده است، اطلاعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند که روش‌های معمول انتقال شامل روابط جنسی بین افراد همجنس و غیر همجنس، دریافت خون یا محصولات خونی آلوده و عبور از مادر به جنین می‌باشند. قبل از کاربرد روزمره تست‌های HIV در مورد فرآورده‌های خونی، دریافت کنندگان خون و بیماران هموفیلی که محصولات خونی را دریافت می‌کردند، در خطر ابتلا به HIV-1 قرار داشتند. معتادین تزریقی که اغلب از سوزن‌های زیر پوستی مشترک جهت تزریق مواد مخدر داخل وریدی استفاده می‌کنند، در معرض خطر بالای ابتلا به ایدز قرار دارند. نوزادان متولد شده از مادران آلوده به HIV-1 نیز در خطر ابتلا به عفونت قرار دارند. با وجود درمان مادران آلوده با عوامل ضد رتروویروسی قبل از زایمان نیز حدود ۳۰٪ نوزادان متولد شده با این ویروس آلوده می‌شوند. راههای انتقال احتمالی ویروس از مادر به نوزاد شامل خون منتقل شده طی فرآیند تولد و شیر در دوران پرستاری از کودک می‌باشند. انتقال ویروس ازیک فرد آلوده به فرد غیر آلوده با احتمال خیلی زیاد از طریق انتقال سلول‌های آلوده به HIV به خصوص ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک و لنفوسیت‌ها می‌باشد.

تخمین زده می‌شود که در اپیدمی جهانی حدود ۷۵٪ موارد انتقال به تماس‌های جنسی مربوط باشند. با وجود این که احتمال انتقال از طریق آمیزش واژنی نسبت به سایر روش‌ها مثل آمیزش مقعدی یا مصرف داروهای داخل وریدی کمتر می‌باشد، ولی احتمال عفونت تا حد زیادی در حضور سایر بیماری‌های منتقله از طریق جنسی (STDs) افزایش می‌یابد. در جوامعی که فحشا شایع می‌باشد، STD ها افزایش یافته که یک کوفاکتور قدرتمند برای انتقال جنسی HIV-1 می‌باشند. دلایل این افزایش میزان عفونت، آسیب‌ها و زخم‌های باز موجود در بسیاری از STDها بوده که انتقال خون آلوده به HIV را هنگام آمیزش مساعد می‌سازند. نتایج مطالعات انجام شد درهند و اوگاندا نشان می‌دهند که ختنه کردن مردان به

www.bbooks.ir

مقدار قابل توجهی خطر دریافت عفونت HIV-1 را در مردان کاهش داده و موجب کـاهش احتمال انتقال به شرکای جنسی مردان ختنه شده می‌گردد. در این مطالعات هـیچ‌گونـه اثـر حفاظتی ختنه در مورد سایر بیماری‌های منتقله از راه جنسی مثل هرپس سیمپلکس نـوع ۲، سیفیلیس یا سوزاک مشاهده نشده است.

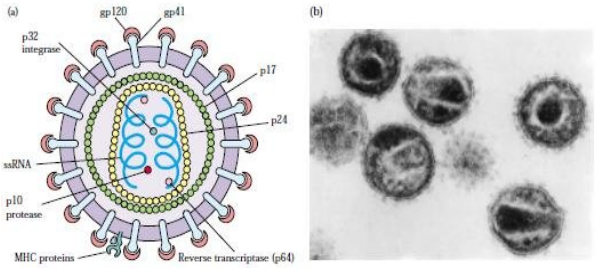
انتقال عفونت HIV-1 مسلزم تماس با خون، شیر، مایع منی یا مـایع واژنـی از یـک فـرد آلوده می‌باشد.علیرغم تماس‌های مکرر متخصصین و محققین پزشکی با مواد آلـوده ، میـزان وقوع ایدز در این افراد بسیار پایین می باشد. خطر انتقال عفونت HIV را مـی‌تـوان بوسـیله روش‌های احتیاطی ساده مثل پرهیز از هر عملی که منجر به قرار گرفتن پوسـت بریـده یـا خراشیده و یا هر غشای مخاطی در معرض خون آلوده گردد، کاهش داد. استفاده از کاندوم هنگام داشتن رابطه جنسی با فردی که وضعیت عفونت آن مشخص نیست، بسـیار توصـیه شده است. یک عامل گسترش HIV، دوره طولانی پس از عفونت بوده که در آن هیچ گونه علامت بالینی مشاهده نمی‌شود، ولی فردآلوده مـی‌توانـد دیگـران را آلـوده کنـد. بنـابراین، استفاده همگانی از روش‌های احتیاطی در هر زمان و هر مکانی که وضعیت عفونت مشـخص نباشد، ضروری می‌باشد.

وقوع اپیدمی ایدز هنگامی رخ داد که بسیاری براین باور بودند کـه بیمـاری‌هـای عفـونی تهدیدی جدی برای مردم ایالات متحده و سایر ملل صنعتی محسوب نگردیده و واکسن‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها عوامل عفونی را کنترل می‌کنند. اخیراً ریشه کنی آبله در جهان جشن گرفتـه شده و تلاش‌های گسترده‌ای به منظور ریشه‌کن کردن فلج اطفال صورت گرفته است. شیوع ایدز تلاش عظیمی را برای مبارزه با این بیماری برانگیخته و علاوه بر آن ، نقص ایمنی که از مشخصات ایدز می‌باشد، ظهور مجدد سایر بیماری‌های عفونی مانند سل را که توان گسترش به جمعیت‌های آلوده شده با HIV را دارند را ممکن ساخته است.

www.bbooks.ir

- رتروویروس HIV-1عامل ایجاد کننده ایدز می‌باشد

چند سال پس از شناخت ایدز، تلاش‌های مونتانیه[1] و رابرت گالو[2] منجر به کشف و توصیف عامل ایجاد کننده آن گردید(شکل ۹-۲۰).



شکل مروری ۹-۲۰: ساختار ویروس HIV. (a) دیاگرام شماتیکی از مقطع یک ویریون HIV. (b) میکروگراف الکترونی ویریون های HIV با بزرگ نمایی ۲۰۰۰۰۰ برابر.

این سندرم نقص ایمنی در زمان خود یک بیماری جدید بود که توسط یک رترو ویروس[3] ایجاد می‌شد. رتروویروس‌ها اطلاعات ژنتیکی خود را به صورت RNAحمل می‌کنند. با ورود ویروس به سلول، RNA بواسطه آنزیمی که توسط ویروس کد می‌شود و ترانس کریتپاز معکوس[4] (RT) نام دارد به DNA تبدیل می‌گردد. همان‌طور که از نام این آنزیم پیداست ، RT فرآیند رونویسی طبیعی را به صورت معکوس انجام داده و از RNA ژنومی ویروس ، یک کپی DNA تولید می‌کند. این کپی که پروویروس[5] نامیده می‌شود، به ژنوم سلول ملحق شده و همراه با DNA میزبان، همانند سازی می‌شود. هنگامی که پروویروس‌ها به منظور تشکیل ویریون‌های جدید، بیان می‌گردند سلول تخریب می‌شود. پروویروس‌ها ممکن است

1-L. Montagnier
2-Robert Gallo
3-retrovirus
4-Reverse transcriptase
5-provirus

www.bbooks.ir

تا دریافت برخی از پیام‌های تنظیمی و شروع روند بیان شدن، بـه صـورت نهفتـه در سـلول باقی بمانند.

قبل از HIV-1 تنها یک رتروویروس انسانی به نام ویروس لنف دوست سلول T انسانی - ۱ (HTLV-1) شناسایی شده بود. این ویروس در نواحی جنـوب ژاپـن و کشـورهای حـوزه دریای کارائیب وجود دارد. با وجودی که بیشتر افراد آلوده به HTLV-1 هیچ‌گونـه علائـم بالینی بیماری را نشان نمی‌دهند، درصد کمی به بیماری شدید دچار شده که یا لوسمی سلول T بالغین بوده که مهاجم بوده و اغلب کشنده می‌باشد و یا یک اختلال عصبی پیش‌رونده بـه نام میلوپاتی مرتبط با HTLV-1 می‌باشد. با وجودی که مقایسه تـوالی‌هـای ژنـومی ایـن دو ویروس نشان می‌دهند که HIV-1خویشاوند نزدیک HTLV-1 نمـی‌باشـد، ولـی تشـابهات خصوصیات کلی آنها با یکدیگر منجر بـه اسـتفاده از نـام HTLV-III بـرای ویـروس ایـدز درگزارشات اولیه گردید. یک ویروس انسانی دیگر به نام HIV-2 نیز وجود دارد که نسبت به HIV-1 در انسان بیماری‌زایی کمتری دارد. HIV-2 مشـابه ویـروس‌هـای جـدا شـده از میمون‌ها بوده و در پریمات‌های غیرانسان که توسط HIV-1 عفونی نمی‌شوند، عفونت ایجـاد می‌کند.

ویروس‌های مرتبط با HIV-1 در پریمات‌های غیر انسان یافت شده‌اند. این ویروس‌ها کـه انواع ویروس‌های نقص ایمنی در میمون‌ها می‌باشند، در انواع خاصی از میمون‌ها نقص ایمنی ایجاد می‌کنند. به صورت طبیعی سویه‌هـای SIV در میزبـان طبیعـی خـود بیمـاری ایجـاد نمی‌کنند ولی هنگامی که به گونه دیگری تزریق شـوند، نقـص اینـی مشـابه ایـدز را ایجـاد می‌کنند. برای مثال، ویروس میمون‌های سبز آفریقایی (SIV agm) که در درصد بـالایی از میمون‌های سبز آفریقایی سالم حضور دارد، هنگامی که به انـواعی از بوزینـه‌هـای دم کوتـاه تزریق شود. نقص ایمنی شدید و کشنده‌ای ایجاد می‌کند.

تعداد دیگری از رتروویروس‌های حیوانی کم و بیش مشابه با HIV-1 گزارش شده‌اند کـه شامل ویروس‌های نقص ایمنی گربه‌ای، گاوی و ویروس لوسمی موش می‌باشند. مطالعـه بـر

www.bbooks.ir

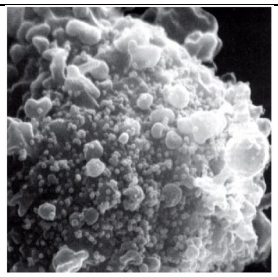
روی این ویروس‌های حیوانی، اطلاعاتی راجع به طبیعت کلی فعالیت رتروویروسی به دست می‌دهد، اما اطلاعات اختصاصی درباره HIV-1 را نمی‌توان با آلوده کردن این حیوانات به دست آورد، زیرا HIV-1 درحیوانات تکثیر نمی‌شود. تنها شامپانزه عفونت با HIV-1 را در یک سطح کافی که در آزمایشات واکسن مفید است، پشتیبانی می‌کند. اما شامپانزه‌ها به ندرت مبتلا به ایدز می‌شوند که ارزش این مدل حیوانی را درمطالعه بیماری‌زایی ویروس محدود می‌کند. علاوه بر آن، تعداد شامپانزه‌ها مانع استفاده از این مدل عفونت می‌شوند. موش‌های SCID بازسازی شده با بافت لنفوئید انسانی به منظور مطالعات مشخص در رابطه با عفونت HIV-1 به خصوص تولید داروهایی که بر همانند سازی ویروس غلبه کنند، مفید بوده‌اند.

دلایل محدود بودن میزبان‌های HIV-1 ، تنها شامل پذیرنده‌های سطحی لازم برای ورود ویروس به سلول میزبان نبوده، بلکه به فاکتورهایی از سلول میزبان که برای وقایع اولیه روند تکثیر ویروس مثل رونویسی و پردازش پیام‌های ویروسی ضروری هستند، وابسته می‌باشد. برای مثال، سلول‌های موشی که ژن‌های بیان گیرنده‌های انسانی HIV-1 را دریافت کرده‌اند، همانند سازی HIV-1 را پشتیبانی نکرده زیرا فاقد سایر فاکتورهای میزبان اصلی می‌باشند. در طرف مقابل، سلول‌های همستر و خرگوش که ژن‌های گیرنده‌های انسانی HIV-1 را دریافت کرده باشند، سطوحی از همانند سازی ویروس را مشابه با سلول‌های انسانی به نمایش می‌گذراند.

- مطالعات in vitro، چرخه همانند سازی HIV-1 را مشخص کرده‌اند

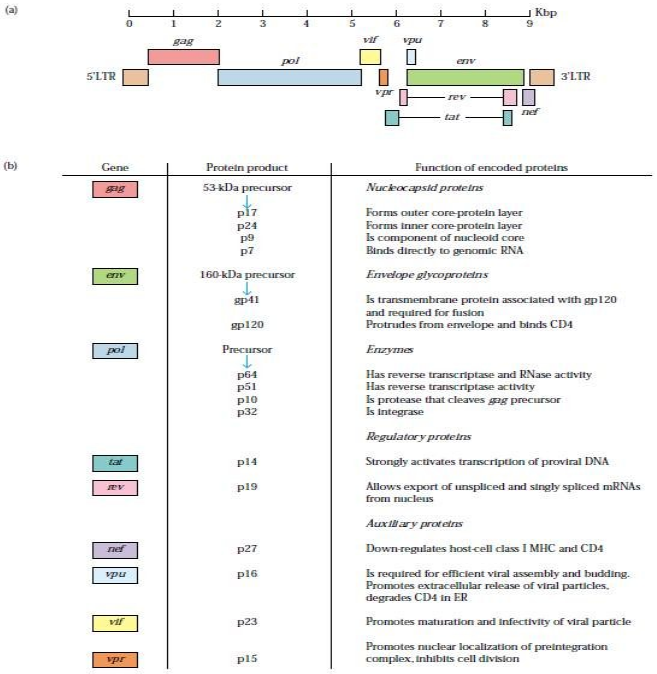
ویروس ایدز قادر به ایجاد عفونت در سلول‌های T محیط کشت بوده، تکثیر گردیده و در بسیاری از موارد منجر به تخریب سلول‌های میزبان می‌گردد (شکل ۱۰-۲۰).

www.bbooks.ir



شکل ۱۰-۲۰: زمانی که پرو ویروس HIV فعال می شود، ذرات ویروس بر روی سطح سلول T آلوده قابل مشاهده می باشند.

در این مطالعات مطالب زیادی درباره چرخه زندگی ویروس HIV-1 به دست آمده است. پروتئین های مختلفی که توسط ژنوم و یروس کد می‌شوند، شناسایی شده‌اند و عملکرد بسیاری از آنها نیز مشخص شده است (شکل ۱۱-۲۰).

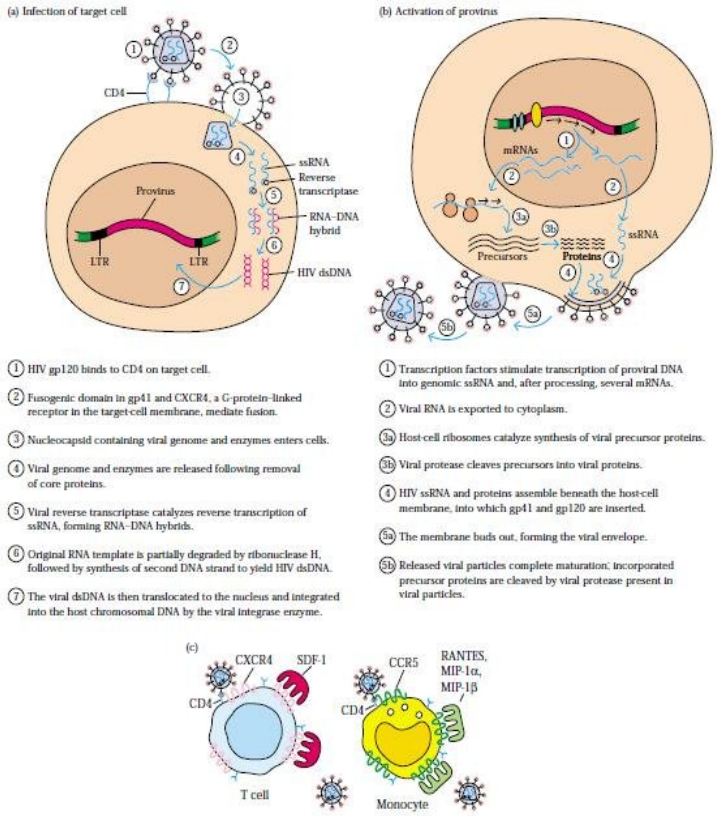


شکل ۱۱-۲۰: (a) سازمان یابی ژن HIV-1 و (b) عملکرد پروتئین های کد شده توسط این ژن ها

www.bbooks.ir

اولین مرحله عفونت HIV، اتصال ویروسی و ورود آن به سلول هدف می‌باشد. HIV-1 انواعی از سلول‌های T را آلوده می‌کند که حامل آنتی‌ژن CD4 باشند، علاوه بر آن سویه‌های خاصی از HIV، منوسیت‌ها و سایر سلول‌هایی که دارای CD4 می‌باشند را عفونی می‌کنند. تمایل به سلول‌های $CD4^+$ به دلیل میل ترکیبی بالا میان این مولکول و یک پروتئین پوششی HIV-1 می‌باشد. با وجودی که ویروس به CD4 موجود بر سطح سلول اتصال می‌یابد، ولی این میانکنش به تنهایی برای ورود ویروس و ایجاد عفونت کافی نمی‌باشد. بیان سایر مولکول‌های سطحی یا کمک پذیرنده‌ها بر سطح سلول‌های T و منوسیت‌ها برای عفونت HIV ضروی می‌باشد. در شکل ۱۲a-۲۰ عفونت یک سلول T به تصویر کنده شده است که در آن دخالت پذیرنده کموکاین CXCR4 مشخص است. آنالوگ این پذیرنده در منوسیت ها و ماکروفاژها CCR5 می‌باشد (فصل ۱۳).

www.bbooks.ir



شکل ۱۲-۲۰: سلول های هدف عفونت HIV و فعال شدن پرو ویروس.

پس از ورود ویروس به سلول، ژنوم RNA آن تحت رونویسی معکوس قرار گرفته و یک کپی از cDNA (پروویروسی) به ژنوم میزبان ملحق می‌شود. رونویسی از پروویروس الحاقی منجر به شکل‌گیری RNA های مختلف ویروسی شده و از روی آنها پروتئین ساخته می‌شود که همراه با یک نسخه جدید کامل از RNA ، ذرات ویروسی جدید را تشکیل می‌دهند (شکل b ۱۲-۲۰) . پروتئین‌های gag ویروسی توسط پروتئاز ویروسی به اشکالی شکسته می‌شوند تا کپسید هسته‌ای را ایجاد کنند (شکل ۱۰-۲۰).

www.bbooks.ir

کشف ایـن کـه CXCR4 و CCR5 بـه عنـوان کمـک پذیرنـده HIV-1 بـه ترتیـب در سلول‌های Tو ماکروفاژها عمل می‌کنند، توضیح دهنده آلوده کنندگی ترجیحی سلول‌هـای T توسط برخی از سویه‌های HIV-1 (سویه‌های T دوست) و سلول‌های منوسیتی توسط برخـی سویه‌های دیگر (سویه‌های M دوست) می‌باشد. هر دو کمـک پذیرنـده HIV-1(CXCR4 و CCR5) به عنوان پذیرنده‌های کموکاین عمل می‌کنند (جدول ۲-۱۳).

TABLE 20-2 Properties of integrin molecules that are absent in leukocyte-adhesion deficiency

	INTEGRIN MOLECULES*		
Property	LFA-1	CR3	CR4
CD designation	CD11a/CD18	CD11b/CD18	CD11c/CD18
Subunit composition	αLβ2	αMβ2	αXβ2
Subunit molecular mass (kDa)			
α chain	175,000	165,000	150,000
β chain	95,000	95,000	95,000
Cellular expression	Lymphocytes Monocytes Macrophages Granulocytes Natural killer cells	Monocytes Macrophages Granulocytes Natural killer cells	Monocytes Macrophages Granulocytes
Ligand	ICAM-1 (CD 54) ICAM-2 (CD 102)	C3bi	C3bi
Function inhibited with monoclonal antibody	Extravasation CTL killing T-B conjugate formation ADCC	Opsonization Granulocyte adherence, aggregation, and chemotaxis ADCC	Granulocyte adherence and aggregation

*CR3 = type 3 complement receptor, also known as Mac-1; CR4 = type 4 complement receptor, also known as gp150/95; LFA-1, CR3 and CR4 are heterodimers containing a common β chain but different α chains designated L, M, and X, respectively

از آنجایی که پذیرنده‌ها توانایی اتصال همزمـان بـه HIV-1 و لیگانـد کموکـاینی خـود را ندارند، بین اتصال ویروسی و لیگاند طبیعی به پذیرنده رقابـت وجـود داشـته وکموکـاین‌هـا می‌توانند ورود ویروس به سلول میزبان را متوقف سازند (شکل ۲۰-۱۲C). با وجـودی کـه کموکاین‌ها در استفاده از کمک پذیرنده‌ها با HIV-1 رقابت می کنند، ولی سایتو کاین‌هـای پیش التهابی موجب القای بیان بیشتر پذیرنده‌های کموکاین بر سطح سلول گشـته و آنهـا را نسبت به ورود ویروس مستعدتر می‌کنند.

عفونت سلول‌های T با نژادهای خاصی از HIV-1 منجر به شکل‌گیـری سـلول‌هـای غـول پیکر می‌گردد که این سلول‌ها در اثر ادغام برخی از سلول‌ها بواسطه میانکنش بـین پـروتئین پوششی gp120 ویروسی کـه بـر سـطح سـلول‌هـای آلـوده قـرار دارنـد بـاCD4 و کمـک پذیرنده‌های موجود بر سطح سایر سلول‌های آلوده یا غیر آلوده ، ایجـاد مـی‌شـوند. پـس از

www.bbooks.ir

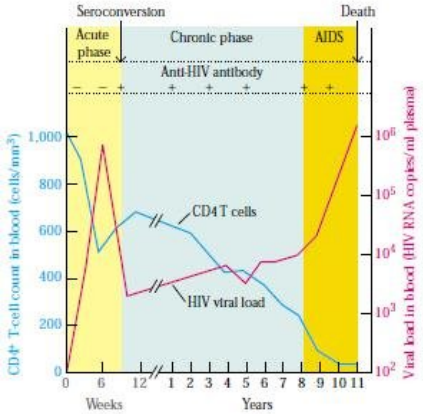
اتصال اولیه، فعالیت سایر مولکول‌های چسبندگی سلولی، آنها را به صورت یک تـوده بـزرگ چند هسته‌ای درمی‌آورد که دارای یک غشای بالونی شکل بوده که در نهایت پاره می‌شود. تشکیل سلول‌های غول پیکر را می‌توان با استفاده از آنتی‌بادی علیه برخی از اپـی تـوپ‌هـای CD4، اشکال محلولCD4 یا آنتی‌بادی علیه مولکول‌های چسبندگی سلولی متوقف ساخت.

- عفونت HIV-1 منجر به عفونت‌های فرصت طلب می‌گردد

جداسازی و رشد دادن HIV-1 در محیط کشت ، تخلیص پروتئین‌های ویروسـی و ایجـاد روش‌های آزمایشگاهی جهت تشخیص عفونت ویروسی را فراهم کرده است. رایج‌ترین روش مورد استفاده ، بررسی حضـور آنتـی‌بـادی‌هـا علیـه پـروتئین‌هـای HIV-1 مـی‌باشـد. ایـن آنتی‌بادی‌ها معمولاً تا سه ماه پس از شروع عفونت در سرم بیمار ظاهر مـی‌شـوند. در ایـن مرحله به فرد بیمار، سرم مثبت[۱] می‌گویند. بـا وجـودی کـه دوره دقیـق عفونـت HIV-1 و مرحله حمله بیماری متفاوت می‌باشد، می‌توان یک طرح کلی را برای پیشرفت به سمت ایدز در نظر گرفت (شکل ۱۳-۲۰).

۱-seropositive

www.bbooks.ir



شکل ۱۳-۲۰: الگوی سرولوژیک عفونت HIV دارای سه مرحله می باشد. بلافاصله پس از عفونت، RNA ویروس در سرم قابل شناسایی است. با این وجود، عفونت HIV اغلب به واسطه آنتی بادی های ضد HIV پس از تبدیل سرمی قابل شناسایی می باشد که به طور طبیعی چند ماه پس از عفونت رخ می دهد. علائم بالینی ایدز معمولاً حداقل تا ۸ سال پس از عفونت بارز نشده اما این دوره زمانی متغیر می باشد.

مرحله‌ای که با عدم وجود آنتی‌بادی علیه HIV-1 آغاز شده و تا سندرم ایدز کامل پیشروی می‌کند. تشخیص ایدز شامل شواهد عفونت با HIV-1 (حضور آنتی‌بادی یا RNA ویروسی درخون)،کاهش شدید تعداد سلول‌های $TCD4^+$ (کمتر از ۲۰۰ سلول در میلی‌متر مکعب)، تضعیف یا فقدان واکنش‌های ازدیاد حساسیت تأخیری و عفونت‌های فرصت طلب می‌باشد (جدول ۳-۲۰).

www.bbooks.ir

TABLE 20-3 Clinical diagnosis of HIV-infected individuals

	CLINICAL CATEGORIES*		
CD4+ T-cell count	A	B	C
≥ 500/μl	A1	B1	C1
200–499/μl	A2	B2	C2
< 200/μl	A3	B3	C3

CLASSIFICATION OF AIDS INDICATOR DISEASE

Category A
- Asymptomatic: no symptoms at the time of HIV infection
- Acute primary infection: glandular fever-like illness lasting a few weeks at the time of infection
- Persistent generalized lymphadenopathy (PGL): lymph node enlargement persisting for 3 or more months with no evidence of infection

Category B
- Bacillary angiomatosis
- Candidiasis, oropharyngeal (thrush)
- Candidiasis, vulvovaginal: persistent, frequent, or poorly responsive to therapy
- Cervical dysplasia (moderate or severe)/cervical carcinoma in situ
- Constitutional symptoms such as fever (> 38.5°C) or diarrhea lasting > 1 month
- Hairy leukoplakia, oral
- Herpes zoster (shingles) involving at least two distinct episodes or more than one dermatome
- Idiopathic thrombocytopenic purpura
- Listeriosis
- Pelvic inflammatory disease, particularly by tubo-ovarian abscess
- Peripheral neuropathy

Category C
- Candidiasis of bronchi, tracheae, or lungs
- Candidiasis, esophageal
- Cervical cancer (invasive)
- Coccidioidomycosis, disseminated or extrapulmonary
- Cryptococcosis, extrapulmonary
- Cryptosporidiosis, chronic intestinal (> 1 month duration)
- Cytomegalovirus disease (other than liver, spleen, or nodes)
- Cytomegalovirus retinitis (with loss of vision)
- Encephalopathy, HIV related
- Herpes simplex: chronic ulcer(s) (> 1 month duration), bronchitis, pneumonitis, or esophagitis
- Histoplasmosis, disseminated or extrapulmonary
- Isosporiasis, chronic intestinal (> 1 month duration)
- Kaposi's sarcoma
- Lymphoma, Burkitt's
- Lymphoma, immunoblastic
- Lymphoma, primary of brain
- *Mycobacterium avium* complex or *M. Kansasii*, disseminated or extrapulmonary
- *Mycobacterium tuberculosis*, any site
- *Mycobacterium*, other or unidentified species, disseminated or extrapulmonary
- *Pneumocystis carinii* pneumonia
- Progressive multifocal leukoencephalopathy
- *Salmonella* septicemia (recurrent)
- Toxoplasmosis of brain
- Wasting syndrome due to HIV

*All categories shown in bold type are considered AIDS. For category A diagnosis, no condition in categories B or C can be present; for category B, no category C condition can be present.

SOURCE: CDC guidelines for AIDS diagnosis, 1993 revision.

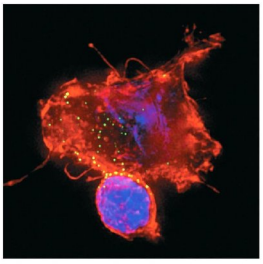
بیماران مبتلا به ایدز معمولاً به سل، پنومونی، اسهال شدید و انواع بدخیمی‌ها مبتلا می‌شوند. زمان بین دریافت ویروس و مرگ ناشی از نقص ایمنی بین ۹ تا ۱۲ سال متغیر می‌باشد. در فاصله زمانی بین عفونت و بیماری شدید، ممکن است علائم اندکی به چشم بخورند. در تعداد اندکی از بیماران، عفونت اولیه با علائمی همچون تب، تورم غدد لنفاوی و راش پوستی همراه می‌باشد. اما این علائم عموماً بیش از چند هفته دوام ندارند. به طور معمول به عفونت اولیه توجهی نمی‌شود وبه یک مرحله مزمن طولانی منجر می‌شود که در طی آن افراد آلوده به میزان اندک یا هیچ‌گونه علائمی از عفونت HIV-1 را نشان نمی‌دهند.

اولین شاخص واضح ایدز ممکن است عفونت فرصت طلب قارچ کاندیدا آلبیکنس باشد که زخم‌هایی در دهان (برفک) به وجود می‌آورد و در زنان یک عفونت ولوواژینال مخمری بوجود می‌آورند که به درمان پاسخ نمی‌دهد. سرفه‌های خشک کوتاه و دائمی ناشی از

www.bbooks.ir

عفونت ریه توسط پنوموسیستیس کارینی نیز ممکن است یک شاخص اولیه باشد. افزایش میزان HIV-1 در جریان پلاسما و کاهش همزمان در تعداد سلول‌های $CD4^+T$، عموماً در اولین تظاهرات این سندرم مشاهده می‌شود. برخی روابط بین تعداد سلول‌های $CD4^+T$ و نوع عفونت به صورت تجربی در بیمار مشخص شده است (جدول ۳-۲۰). از جالب توجه‌ترین موارد برای ایمونولوژیست‌ها وقایعی است که در آن با مواجهه اولیه HIV-1 اضمحلال سیستم ایمنی میزبان رخ می‌دهد. شناخت چگونگی چشم پوشی سیستم ایمنی از HIV-1 در طول مرحله مزمن می‌تواند منجر به طراحی استراتژی‌های درمانی و پیشگیرانه مؤثر شود.

تحقیق در روند اصول پیشرفت عفونت HIV به AIDS، یک فعل و انفعال پویا بین ویروس و سیستم ایمنی را نشان می‌دهد. وقوع عفونت اولیه موجب انتشار ویروس در اندام‌های لنفوئیدی و به دنبال آن سبب ایجاد پاسخ ایمنی قوی می‌شود. یکی از روش‌های مرسوم پخش شده ویروس از جایگاه اولیه به اندام‌های لنفاوی ، سلول‌های دندریتیک می‌باشد. سلول‌های دندریتیک می‌توانند ویروس‌ها را برداشته و آنها را به نواحی غنی از سلول T بیاورند و همچنین کمک محرکی مورد نیاز برای فعال‌سازی سلول T را نیز فراهم می‌آورند، این امر سبب شده تا سلول‌های دندریتیک، میزبان مناسبی برای عفونت HIV باشند. مشاهدات مستقیم HIV-1 در جایگاه میانکنش سلول دندریتیک و سلول T، مکانیسم گسترش اولیه HIV-1 به دنبال مواجهه با ویروس را اثبات می‌کند (شکل ۱۴-۲۰).



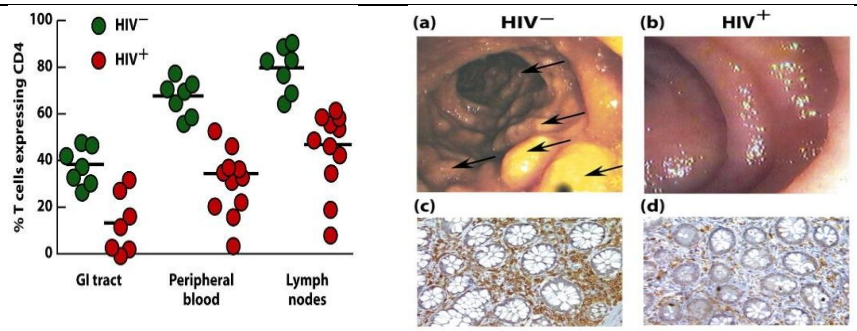
شکل ۱۴-۲۰: برهمکنش بین سلول دندریتیک و سلول T.

www.bbooks.ir

به دنبال مواجهه بافت لنفاوی با ویروس یک پاسخ ایمنی شامل آنتی‌بادی و لنفوسیت‌های $CD8^+T$، از تکثیر ویروس ممانعت به عمل می‌آورند. پس از یک ویرمی شدید ، سطح ویروس در گردش خون به حالت ثابت می‌رسد. اگر چه به طور معمول افراد آلوده در این مرحله از بیماری، علائم بالینی ندارند. اما تکثیر ویروس ادامه یافته و ویروس را می‌توان در گردش خون با آزمون حساسPCR برای RNA ویروسی، تشخیص داد. این آزمون‌ها که بار ویروسی (تعداد نسخه‌های ژنوم ویروس موجود در پلاسما) را می‌سنجد، تصور می‌شود که نقش عمده‌ای در تشخیص وضعیت و پیش‌آگهی بیماران دارد. حتی هنگامی که میزان ویروس در گردش خون ثابت است. مقادیر فراوانی ویروس در سلول‌های $CD4^+T$ تولید می‌شوند؛ $۱۰^۹$ ویریون رها شده و پیوسته سایر سلول‌های T میزبان را آلوده و تخریب می‌کنند. علیرغم این میزان بالای تکثیر، در سرتاسر مرحله مزمن عفونت، سیستم ایمنی با ویروس مقابله نموده و سطح ویروس درگردش خون، حدوداً ۶ ماه بعد از شروع عفونت، پیش‌بینی کننده خوبی برای دوره بیماری می‌باشد. در این دوره میزان پایین ویروس سبب می شود افراد آلوده به مدت بیشتری دور از عفونت‌های فرصت طلب باشند. اما در صورت عدم درمان، نهایتاً ویروس در سیستم ایمنی میزبان غلبه کرده وبار ویروسی از سطح ثابت فراتر می‌رود، تعداد سلول‌های $CD4^+T$ کاهش یافته و عفونت‌های فرصت طلب چنان افزایش می‌یابند که در نهایت منجر به مرگ بیمار می‌شوند.

اگرچه بار ویروسی پلاسما در سرتاسر دوره عفونت مزمن HIV-1 ثابت باقی می‌ماند ولی آزمایش غدد لنفاوی و بافت مجاری گوارشی، شکل متفاوتی را نشان می‌دهند. برش‌های غدد بدست آمده ، میزان بالایی از سلول‌های آلوده را در تمام مراحل عفونت نشان می‌دهد؛ در بسیاری از موارد ، پیش از آن که بارویروس پلاسما از حد ثابت فراتر رود، ساختار غده لنفی توسط ویروس کاملاً تخریب می‌شود (شکل ۱۵-۲۰).

www.bbooks.ir



شکل ۱۵-۲۰: شواهد اندوسکوپی و بافتی از تکوین سلول های $CD4^+$ T در دستگاه گوارش بیماران مبتلا به ایدز. (a و b) دستگاه گوارش افراد سالم و بیوپسی ناحیه ای از ایلئوم انتهایی که سلول های $CD4^+$ T با آنتی بادی رنگ آمیزی شده است. (c و d) آنالیز یک بیمار مبتلا به ایدز که عدم بافت لنفوئیدی طبیعی و سلول های $CD4^+$ T اندکی را نشان می دهد. (e) مقایسه تعداد سلول های $CD4^+$ T در نمونه های دستگاه گوارش، خون محیطی و غده لنفاوی افراد سالم.

کاهش سلول‌های $CD4^+T$ شاخصی برای ایدز می‌باشد. از آنجایی که انتظار می‌رود سلول‌های Tآلوده موجود درجریان خون این بیماران افزایش یابند، عفونت مستقیم ویروسی و تخریب سلول‌های $CD4^+T$ به عنوان عامل اولیه کاهش این سلول‌ها شناخته شده است. در بررسی‌های اخیر، علت به سختی یافت شدن سلول‌های آلوده در افرادی که سریعاً از HIV می‌میرند، مشخص شده است، چرا که نیمه عمر یک سلول $CD4^+T$ آلوده شده کمتر از ۱/۵ روز می‌باشد. تعداد کمی از سلول‌های$CD4^+T$ نیز وجود دارند که آلوده می‌شوند اما ویروس‌ها به طور فعال تکثیر نمی‌کنند. این سلول‌ها مدت ها به صورت نهفته باقی می‌مانند و RNA پروویروسی تنها در مرحله تقسیم سلول به همراه DNA سلولی تکثیر می‌یابد.

نه تنها کاهش سلول‌های $CD4^+T$ بلکه سایر پیامدهای ایمنی را نیز می‌توان در طول پیشرفت ایدز در بیماران آلوده به HIV سنجید،که شامل کاهش یا فقدان ازدیاد حساسیت تاخیری به آنتی‌ژن‌هایی است که فرد به طور طبیعی با آنها واکنش می‌دهند و سطح سرمی ایمونوگلبولین‌ها (بویژه IgG و IgA) در بیماران ایدزی به سرعت افزایش می‌یابد. این

www.bbooks.ir

افزایش ممکن است در نتیجه افزایش زیر جمعیت‌های سلولB در افراد آلوده به HIV باشد که به میزان اندک CD21 را عرضه کرده و ترشح ایمونوگلبولین درآنها افزایش می‌یابد. این جمعیت سلولی در پاسخ به میتوژن‌های سلول B بسیار ضعیف تکثیر مـی‌یابنـد. پارامترهـای سلولی پاسخ ایمنی، مانند پاسخ تکثیری به میتوژن‌ها، آنتی‌ژن‌ها یا آلوآنتی‌ژن‌ها همگی کاهش مشخصی را نشان می دهند. معمولاً افراد آلوده به HIV ، توانایی ایجاد پاسخ‌های سلول T را به ترتیب زیر از دست می‌دهند. در ابتدا توانایی پاسخ به آنتی‌ژن‌های اختصاصـی از دسـت می‌رود، سپس پاسخ به آلوآنتی‌ژن‌ها کاهش می‌یابد و در نهایت پاسخ به میتوژن‌هـایی مثـل کانکاناوالین A یا فیتوهماگلوتینین تنها برای مدت کوتاهی قابل شناسایی می‌باشد. در جـدول ۴-۲۰ برخی ناهنجاری‌های ایمنی در ایدز ثبت شده است.

TABLE 20-4 Immunologic abnormalities associated with HIV infection

Stage of infection	Typical abnormalities observed
	LYMPH NODE STRUCTURE
Early	Infection and destruction of dendritic cells; some structural disruption
Late	Extensive damage and tissue necrosis; loss of folicular dendritic cells and germinal centers; inability to trap antigens or support activation of T and B cells
	T HELPER (T_H) CELLS
Early	No in vitro proliferative response to specific antigen
Late	Decrease in T_H-cell numbers and corresponding helper activities; no response to T-cell mitogens or alloantigens
	ANTIBODY PRODUCTION
Early	Enhanced nonspecific IgG and IgA production but reduced IgM synthesis
Late	No proliferation of B cells specific for HIV-1: no detectable anti-HIV antibodies in some patients; increased numbers of B cells with low CD21 and enhanced Ig secretion.
	CYTOKINE PRODUCTION
Early	Increased levels of some cytokines
Late	Shift in cytokine production from T_H1 subset to T_H2 subset
	DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY
Early	Highly significant reduction in proliferative capacity of T_H1 cells and reduction in skin-test reactivity
Late	Elimination of DTH response; complete absence of skin-test reactivity
	T CYTOTOXIC (T_C) CELLS
Early	Normal reactivity
Late	Reduction but not elimination of CTL activity due to impaired ability to generate CTLs from T_C cells

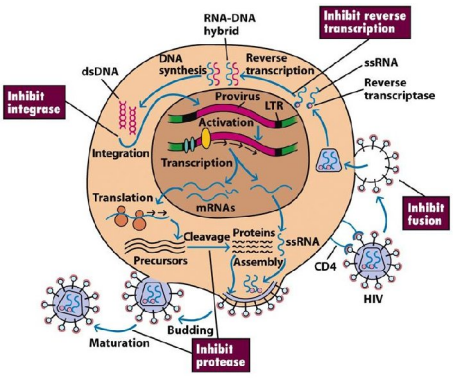
اغلب افراد آلوده به HIV-1 ، نقص عملکرد سیستم عصبی مرکـزی و محیطـی را نشـان می‌دهند. مقایسه کمّی نمونه‌های به دست آمده از مغز، غدد لنفاوی، طحـال و ریـه بیمـاران ایدزی با آنسفالوپاتی پیش‌رونده نشان می‌دهد که مغـز، شـدیداً آلـوده مـی‌باشـد. عـوارض

www.bbooks.ir

معمول مراحل پایانی عفونت HIV، جنون پیچیده ایدزی می‌باشد که با ناهنجاری در آگـاهی و اجرای حرکات و رفتار مشخص می‌شود. اگـر چـه جنـون ایـدزی و سـایر آثـار بـالینی و هیستوپاتولوژی مشاهده شـده در CNS افـراد آلـوده بـه HIV ، در نتیجـه تـاثیر مسـتقیم آنتی‌ژن‌های ویروسی روی مغز می‌باشد، ولی پیامد پاسخ‌های ایمنی به ویروس و یا چگـونگی ایجاد عفونت با عوامل فرصت طلب ناشناخته باقی مانده است.

- عوامل درمانی، تکثیر رتروویروس را مهار می‌کنند

تولید واکسن جهت پیشگیری ازگسترش ایدز، اولویت اول ایمونولوژیست‌ها می‌باشـد، امـا تولید دارو و درمان‌هایی که بتوانند اثرات HIV-1 را در افـراد آلـوده برطـرف سـازند نیـز ضروری می‌باشد. تعداد افراد آلوده به HIV-1 تنهـا در ایـالات متحـده، یـک میلیـون نفـر برآورد می‌شود. تصور این که تمام این افـراد بـه سـمت ایـدز برونـد، تـراژدی وحشـتناکی می‌باشد. چندین راهکار برای تولید داروهای ضد ویروسی مؤثر وجـود دارد. چرخـه زنـدگی HIV ، نقاط حساسی دارد که می‌توان آنها را با عوامل دارویی مهار نمود (شکل ۱۶-۲۰).



شکل ۱۶-۲۰: مراحل چرخه تکثیر ویروسی که در درمان با داروهای ضد رتروویروسی مورد هدف قرار می گیرد. امروزه داروهای معتبر با خاصیت ضد HIV ورود این ویروس را به سلول متوقف ساخته و مرحله نسخه برداری معکوس RNA ویروس به cDNA را متوقف ساخته یا پروتئاز ویروسی لازم برای شکست پروتئین‌های پیش ساز ویروسی را مهار می کند.

www.bbooks.ir

کلید موفقیت چنین درمان‌هایی این است کـه بایسـتی بـرای HIV-1 اختصاصـی بـوده و حداقل تداخل را با فرآیندهای طبیعی سلول داشته باشند. تاکنون دو نوع ماده ضد ویروسی راه خود را به سمت استفاده رایج باز کرده‌اند (جدول ۵-۲۰).

TABLE 20-5 Some anti-HIV drugs in clinical use

Generic name (other names)	Typical dosage	Some potential side effects
REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS: NUCLEOSIDE ANALOGUE		
Didanosine (Videx, ddI)	2 pills, 2 times a day on empty stomach	Nausea, diarrhea, pancreatic inflammation, peripheral neuropathy
Emtricitabine (Emtriva, FTC)	1 pill, 1 time a day	Headache, diarrhea, nausea, rash
Lamivudine (Epivir, 3TC)	1 pill, 2 times a day	Usually none
Stavudine (Zerit, d4T)	1 pill, 2 times a day	Peripheral neuropathy
Zalcitabine (HIVID, ddC)	1 pill, 3 times a day	Peripheral neuropathy, mouth inflammation, pancreatic inflammation
Zidovudine (Retrovir, AZT, ZDV)	1 pill, 2 times a day	Nausea, headache, anemia, neutropenia (reduced levels of neutrophil white blood cells), weakness, insomnia
Pill containing lamivudine and zidovudine (Combivir)	1 pill, 2 times a day	Same as for zidovudine
Abacavir (Ziagen)	2 pills, 1 time a day	Nausea, vomiting, diarrhea, lactic acidosis (severe liver disease)
Tenofvir (Viread)	1 pill, 1 time a day	Nausea, vomiting, increased risk of bone breakage
REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS: NONNUCLEOSIDE ANALOGUES		
Delavirdine (Rescriptor)	4 pills, 3 times a day (mixed into water); not within an hour of antacids or didanosine	Rash, headache, hepatitis
Nevirapine (Viramune)	1 pill, 2 times a day	Rash, hepatitis
Efavirenz (Sustiva)	1 pill, 1 time a day	Dizziness, insomnia, rash
PROTEASE INHIBITORS		
Indinavir (Crixivan)	2 pills, 3 times a day on empty stomach or with a low-fat snack and not within 2 hours of didanosine	Kidney stones, nausea, headache, blurred vision, dizziness, rash, metallic taste in mouth, abnormal distribution of fat, elevated triglyceride and cholesterol levels, glucose intolerance
Nelfinavir (Viracept)	3 pills, 3 times a day with some food	Diarrhea, abnormal distribution of fat, elevated triglyceride and cholesterol levels, glucose intolerance
Ritonavir (Norvir)	6 pills, 2 times a day (or 4 pills, 2 times a day if taken with saquinavir) with food and not within 2 hours of didanosine	Nausea, vomiting, diarrhea, abdominal pain, headache, prickling sensation in skin, hepatitis, weakness, abnormal distribution of fat, elevated triglyceride and cholesterol levels, glucose intolerance
Saquinavir (Invirase, a hard-gel capsule; Fortovase, a soft-gel capsule)	6 pills, 3 times a day (or 2 pills, 2 times a day if taken with ritonavir) with a large meal	Nausea, diarrhea, headache, abnormal distribution of fat, elevated triglyceride and cholesterol levels, glucose intolerance
Atazanavir (Reyataz)	2 pills, 1 time a day	Must be used with at least two other drugs
Fosamprenavir calcium? (Lexiva)	2 pills, 2 times a day	Appetite loss, malaise, diarrhea, nausea, vomiting
FUSION INHIBITORS		
Enfuvirtide (Fuzeon, T-20)	Subcutaneous injection 2 times daily	Soreness at injection site, dizziness, loss of sleep, numbness in feet and legs

اولین درمان موفقیت آمیز توسط داروهایی بود که با نسخه داری معکوس RNA ویروسی و تبدیل آن به DNA، تداخل ایجاد می‌کردند. دومین مرحله تکثیر ویروس که قابـل مهـار کردن می‌باشد، شکست پروتئین‌های پیش‌ساز جهت ساخت یک ویریون بالغ جدید می‌باشد. این مرحله نیازمند پروتئاز اختصاصی ویروس بوده و می‌توان آن را با عوامل شـیمیایی مهـار نمود. سومین نوع داروهایی که اخیراً مجوز دریافت کرده‌اند، enfuvirtide با مارک تجـاری

www.bbooks.ir

فوزئون می‌باشد که مهار کننده اتصال بوده و از ورود ویروس به سلول‌های هدف جلوگیری می‌کند.

نمـــونه اولیــه داروهایی که در نسخه برداری معکوس تداخل ایجاد می‌کنند، زیدودین یـا AZT(آزید وتیمیدین) می‌باشد. ورود AZT (یک آنالوگ نوکلئوزیدی) به زنجیره cDNA در حال تکثیر رتروویروس، سبب خاتمه زنجیره می‌گردد. AZT در برخی بیماران مؤثر بوده و کارآیی محدودی دارد زیرا، استفاده طولانی‌مـدت آن، آثـار جـانبی داشـته و در بیمـاران، ویروس‌های جهش‌یافته مقاوم به وجود می‌آیند. AZT نه تنهـا توسـط آنـزیم RT ویـروس، بلکه توسط DNA پلیمراز انسانی نیز استفاده مـی‌شـود. ورود AZT بـه DNA سـلول‌هـای میزبان آنها را از بین می‌برد. به خصوص پش‌ساز سلول‌هایی قرمز خونی بـه AZT حسـاس بوده و منجر به آنمی و سایر آثار جانبی می‌شود. یک روش دیگر جهت مهار نسخه‌بـرداری معکوس به کار گرفتن داروهایی نظیر نویراپین[۱] و دلاویریدن[۲] می‌باشد که عمل آنـزیم RT را مهار می‌کنند.

تأثیر رده دوم داروهایی با نام سرکوب‌گرهای پروتئاز، زمانی که توأم با AZT و یـا سـایر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی به کار می‌روند، اثبات شده است. درمـان رایـج ایـدز شـامل یـک درمان ترکیبی می‌باشد که با استفاده از رژیم هـای تحـت عنـوان درمـان ضدرتروویروسـی بسیار فعال[۳] (HAART) صورت می‌گیرد. در اکثر موارد از ترکیب دو آنالوگ نوکلئوزیـدی ویک سرکوب‌گر پروتئاز استفاده میشود. به نظر مـی‌رسـد راه‌کارهـای ترکیبـی، بـر توانـایی ویروس جهت تولید سریع جهش یافته‌های مقاوم به دارو، فائق آمـده اسـت در بسـیاری از موارد، HAART بار ویروسی پلاسما را کاهش داده و به سطحی می‌رساند که با روش‌هـای معمول قابل تشخیص نبوده و موجب بهبود بیماران ایدزی می‌شود، تاحدی که عملکرد آنهـا دوباره به میزان طبیعی باز می‌گردد. کاهش در تعداد مـوارد مـرگ ناشـی از ایـدز کـه در

۱-nevirapine
۲ -delaviridine
3-Highly active antiretroviral therapy

www.bbooks.ir

ایالات متحده درسال‌های اخیر مشاهده می‌شود (شکل ۷-۲۰)، بـه پیشـرفت در ایـن گونـه درمان‌ها نسبت داده می‌شود. علیرغم موفقیت‌های به دست آمده از HAART ، وجود یـک برنامه زمانی دقیق برای تزریق و میزان بالای قرص‌هایی که روزانه باید مصرف شود،از نقاط ضعف آن محسوب می‌شود . علاوه براین ممکن است عوارض جـانبی شـدیدی نیـز داشـته باشد (جدول ۵-۲۰).

TABLE 20-5 Some anti-HIV drugs in clinical use

Generic name (other names)	Typical dosage	Some potential side effects
REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS: NUCLEOSIDE ANALOGUE		
Didanosine (Videx, ddI)	2 pills, 2 times a day on empty stomach	Nausea, diarrhea, pancreatic inflammation, peripheral neuropathy
Emtricitabine (Emtriva, FTC)	1 pill, 1 time a day	Headache, diarrhea, nausea, rash
Lamivudine (Epivir, 3TC)	1 pill, 2 times a day	Usually none
Stavudine (Zerit, d4T)	1 pill, 2 times a day	Peripheral neuropathy
Zalcitabine (HIVID, ddC)	1 pill, 3 times a day	Peripheral neuropathy, mouth inflammation, pancreatic inflammation
Zidovudine (Retrovir, AZT, ZDV)	1 pill, 2 times a day	Nausea, headache, anemia, neutropenia (reduced levels of neutrophil white blood cells), weakness, insomnia
Pill containing lamivudine and zidovudine (Combivir)	1 pill, 2 times a day	Same as for zidovudine
Abacavir (Ziagen)	2 pills, 1 time a day	Nausea, vomiting, diarrhea, lactic acidosis (severe liver disease)
Tenofvir (Viread)	1 pill, 1 time a day	Nausea, vomiting, increased risk of bone breakage
REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS: NONNUCLEOSIDE ANALOGUES		
Delavirdine (Rescriptor)	4 pills, 3 times a day (mixed into water); not within an hour of antacids or didanosine	Rash, headache, hepatitis
Nevirapine (Viramune)	1 pill, 2 times a day	Rash, hepatitis
Efavirenz (Sustiva)	1 pill, 1 time a day	Dizziness, insomnia, rash
PROTEASE INHIBITORS		
Indinavir (Crixivan)	2 pills, 3 times a day on empty stomach or with a low-fat snack and not within 2 hours of didanosine	Kidney stones, nausea, headache, blurred vision, dizziness, rash, metallic taste in mouth, abnormal distribution of fat, elevated triglyceride and cholesterol levels, glucose intolerance
Nelfinavir (Viracept)	3 pills, 3 times a day with some food	Diarrhea, abnormal distribution of fat, elevated triglyceride and cholesterol levels, glucose intolerance
Ritonavir (Norvir)	6 pills, 2 times a day (or 4 pills, 2 times a day if taken with saquinavir) with food and not within 2 hours of didanosine	Nausea, vomiting, diarrhea, abdominal pain, headache, prickling sensation in skin, hepatitis, weakness, abnormal distribution of fat, elevated triglyceride and cholesterol levels, glucose intolerance
Saquinavir (Invirase, a hard-gel capsule; Fortovase, a soft-gel capsule)	6 pills, 3 times a day (or 2 pills, 2 times a day if taken with ritonavir) with a large meal	Nausea, diarrhea, headache, abnormal distribution of fat, elevated triglyceride and cholesterol levels, glucose intolerance
Atazanavir (Reyataz)	2 pills, 1 time a day	Must be used with at least two other drugs
Fosamprenavir calcium? (Lexiva)	2 pills, 2 times a day	Appetite loss, malaise, diarrhea, nausea, vomiting
FUSION INHIBITORS		
Enfuvirtide (Fuzeon, T-20)	Subcutaneous injection 2 times daily	Soreness at injection site, dizziness, loss of sleep, numbness in feet and legs

www.bbooks.ir

- به نظر می‌رسد واکسن ، تنها راه توقف اپیدمی HIV/ ایدز باشد

علیرغم پیشرفت شیوه‌های درمانی که در بالا اشاره شد، اپیدمی ایدز همچنان ادامه دارد. با وجود گران بودن ، HAART نیازمند یک رژیم درمانی دقیق بوده و هزینه بالایی (سالانه ۱۵۰۰۰ دلار) دارد؛ در ضمن احتمال عوارض جانبی ، مانع از استفاده همگانی آن می‌شود. حتی در صورت ریشه‌کنی ویروس در افراد معالجه شده با درمان ترکیبی، روی اپیدمی کشورهای در حال توسعه که اکثریت قربانیان ایدز را در بر می‌گیرند، تاثیر چشمگیری نخواهد داشت. این احتمال وجود دارد که در آینده، داروهای ارزان ، کارآمد و بسیار مقاومی تولید شوند. اما در حال حاضر به نظر می‌رسد که بهترین گزینه برای جلوگیری از گسترش ایدز یک واکسن مطمئن و مؤثر می‌باشد که از عفونت و پیشرفت آن به بیماری جلوگیری کنند. چرا واکسنی برای ایدز نداریم؟ بهترین پاسخ برای این پرسش، بررسی شرایط ویژه‌ای است که بایستی برای تولید یک واکسن مؤثر و مطمئن جهت این بیماری مورد توجه قرار گیرد (جدول ۶-۲۰).

TABLE 20-6 Why AIDS does not fit the paradigm for classic vaccine development

Classic vaccines mimic natural immunity against reinfection generally seen in individuals recovered from infection; there are no recovered AIDS patients.
Most vaccines protect against disease, not against infection; HIV infection may remain latent for long periods before causing AIDS.
Most vaccines protect for years against viruses that change very little over time; HIV-1 mutates at a rapid rate and efficiently selects mutant forms that evade immunity.
Most effective vaccines are whole killed or live attenuated organisms; killed HIV-1 does not retain antigenicity, and the use of a live retrovirus vaccine raises safety issues.
Most vaccines protect against infections that are infrequently encountered; HIV may be encountered daily by individuals at high risk.
Most vaccines protect against infections through mucosal surfaces of the respiratory or gastrointestinal tract; the great majority of HIV infection is through the genital tract.
Most vaccines are tested for safety and efficacy in an animal model before trials with human volunteers; there is no suitable animal model for HIV/AIDS at present.

SOURCE: Adapted from A. S. Fauci, 1996, An HIV vaccine: breaking the paradigms, *Proceedings of the Association of American Physicians* 108:6.

www.bbooks.ir

- مؤثرترین واکسن‌ها از آثار طبیعی عفونت تقلید می‌کنند: افرادی که از اکثر بیماری‌ها بهبود می‌یابند، در برابر حملات بعدی آن مصون می‌باشند. عفونت HIV-1 و پیشرفت آن به سمت ایدز حتی در حضور آنتی‌بادی‌های درگردش علیه پروتئین‌های ویروسی نیز صورت می‌گیرد. ایمنی ممکن است برای مدتی با ویروس مقابله کند. اما همانگونه که اشاره شد، افراد درمان نشده آلوده به HIV به ندرت بیش از ۱۲ سال زنده می‌مانند. حتی در گروه اندکی از افراد آلوده به نام long-term nonprogressor مدت عفونت بدون بیماری طولانی‌تر می‌باشد. گروه دیگری از افراد ایمن، آنهایی هستند که به طور دائم در مواجهه با ویروس بوده ولی سرم منفی باقی می‌مانند. در این طبقه، درصد کمی از افراد وجود دارند که شغل جنسی داشته و در مناطق آندمیک مثل نایروبی، علیرغم مواجهه مکرر روزانه با افراد آلوده، آلوده نمی‌شوند. از آنجایی که وضعیت ایمنی در این افراد واضح و یا ثابت نیست، تولید واکسن مبتنی بر هریک از بازوهای هومورال و سلولی سیستم ایمنی دشوار می‌باشد.
- اکثر واکسن‌ها، از بیماری پیشگیری می‌کنند نه از عفونت: واکسن‌های پولیو و آنفولانزا از تولید ویروس در سلول‌های آلوده جلوگیری می‌کنند به طوری که مانع آسیب به میزبان می‌شوند و سپس ویروس ، پاکسازی می‌شود. HIV-1 برای این مدل مناسب نمی‌باشد. زیرا وارد ژنوم میزبان شده و برای مدت‌های طولانی به صورت نهفته باقی می‌ماند. پاکسازی رتروویروس‌ها یکی از اهداف دشوار واکسن می‌باشد؛ هر نسخه از این ویروس و هر سلول آلوده میزبان می‌بایست از بین بروند. با این حال، حتی بدون ریشه‌کنی کامل، یک واکسن HIV می‌تواند برای افراد آلوده مفید باشد و واکسنی که موجب کاهش بارویروسی شود به کنترل گسترش عفونت کمک خواهد کرد.
- بسیاری از واکسن‌ها از عفونت ناشی از ویروس‌هایی که تغییر پذیری اندکی نشان می‌دهند، پیشگیری می‌کنند: ناپایداری ژنوم ویروس HIV-1 آن را از برخی ویروس‌ها که واکسن‌های موفقی برای آنان ساخته شده متمایز می‌سازد. به استثنای آنفولانزا که

www.bbooks.ir

واکسن آن بایستی به صورت دوره‌ای تغییر کند، اکثر ویروس‌هایی که می‌توان آنها را با ایمونیزاسیون کنترل نمود، در ساختار خودتغییرات اندکی نشان می‌دهند. برای مقایسه، ملاحظه کنید که رینوویروس‌های عامل سرماخوردگی بیش از ۱۰۰ زیر نوع دارند، بنابراین هیچ واکسن مؤثری علیه آنها ساخته نشده است. HIV-1 در اکثر آنتی‌ژن های ویروسی خود تغییراتی نشان می‌دهد و میزان تکثیر آن ممکن است به مقدار $۱۰^{۹}$ ویروس‌در روز باشد. این تغییرپذیری همراه با نرخ بالای تکثیر، امکان ایجاد ویروس‌هایی با چندین جهش را فراهم می‌کند. برخی از این ویروس‌ها می‌توانند از سیستم ایمنی فرار کنند. یافته‌ها نشان می‌دهند که آنتی‌بادی بیماران مبتلا به ایدز پیشرفته نمی‌تواند ویروس جدا شده از خود این بیماران راخنثی کند اما می‌تواند سایر سویه‌های HIV-1 را از بین ببرد و این امر ثابت می‌کند که HIIV-1 می‌تواند از طریق جهش در پروتئین‌های هدف آنتی‌بادی،از سیستم ایمنی فرار کند.

- اکثر واکسن‌های کارآمد، ارگانیسم های زنده تخفیف حدت یافته و یا کشته شده می‌باشند؛ اگر چه استثناهایی در این مورد وجود دارد ولی اکثر واکسن‌هایی که به طور گسترده استفاده می‌شوند، ارگانیسم‌های تخفیف حدت یافته می‌باشند. ساخت یک واکسن زنده تخفیف حدت یافته رتروویروسی از ویروس های حیوانی مهندسی شده و حاوی آنتی‌ژن‌های HIV، عملی می‌باشد. با این وجود، استفاده از واکسن‌های زنده در مورد رتروویروس‌های انسانی که وارد ژنوم میزبان می‌شوند، کارساده‌ای نمی‌باشد. آزمون‌های بسیار دقیقی جهت اطمینان از این که واکسن زنده رتروویروسی قابل اطمینان بوده و موجب عفونت مزمن در میزبان نمی‌شود، ضروری است. در آن روی سکه، بررسی‌های بالینی با استفاده از سایر واکسن‌ها مثل واکسینیاو Canary pox تخفیف حدت یافته به عنوان ناقلینی برای ژن‌های کد کننده پروتئین‌های HIV، مرحله اول کارآزمایی بالینی را گذرانده و به مرحله دوم رسیده است.

www.bbooks.ir

- در مورد بسیاری از ویروس‌ها، مواجهه مکرر با عفونت نادر و یا فصلی می‌باشد. بسیاری از افراد در معرض خطر بالا، در مواجهه مکرر با دوز بالای ویروسی می‌باشند، بنابراین لازم است که یک واکسن ایدز، از عفونت در برابر حمله دائم این ویروس یا دوز بالای ویروس‌ها جلوگیری کند. ولی در این مورد، ویروس‌هایی که ایمونیزاسیون در مورد آنها موفقیت آمیز صورت می‌گیرد، معمول نمی باشد.
- بسیاری از واکسن‌ها، در برابر عفونت‌های گوارشی یا تنفسی محافظت ایجاد می‌کنند: علاوه بر مواجهه مکرر با HIV، موضوع دیگر، شیوه مواجهه می‌باشد. اکثر واکسن‌های موفق ، در برابر ویروس‌های مواجه شده با مجاری گوارشی یا تنفسی محافظت ایجاد می‌کنند؛ معمول‌ترین شیوه ایجاد عفونت HIV از طریق مجرای تناسلی می‌باشد. این که آیا ایمنی ایجاد شده با روش‌های مرسوم واکسیناسیون، علیه عفونت ناشی از این روش، محافظت کننده می‌باشد یا خیر شناخته نشده است. اگر چه فقدان مدل حیوانی کاملاً مرتبط ، مانع از آزمودن دقیق این نوع محافظت می‌شود ، اما بررسی‌های مقدماتی در مورد واکسن، با مواجهه رکتال و واژینال پریمات‌هایی که با ویروس‌های کایمریک SIV – HIV (5HIV) ایمن شده بودند، نشان داد که در این شیوه مواجهه، محافظت ایجاد شده است.

ساخت بسیاری از واکسن‌ها جهت کارآزمایی‌های بالینی، متکی برآزمون‌های حیوانی می‌باشد. آزمون اطمینان و کارآیی یک واکسن، به طور طبیعی مستلزم آلوده سازی یک حیوان با ویروس تحت شرایط مشابه با انسان می‌باشد. در این شیوه بین این دو ایمنی محافظتی، همبستگی وجود دارد. برای مثال، اگر تیتر بالای از سلول‌های $CD4^{+}T$ و آنتی‌بادی سنجیده شود. بررسی حیوانی عفونت و بیماری HIV ، تاکنون حقایق اندکی درمورد پاسخ ایمنی که علیه عفونت، محافظت کننده باشد را آشکار کرده است. بسیاری از نتایج مربوط به یک ویروس خاص در یک میزبان خاص بوده و به راحتی نمی‌توان آن را به سایرین تعمیم داد، زیرا علاوه بر رابطه میان ایمونیزاسیون و سویه‌های ویروسی،

www.bbooks.ir

ویروس به فاکتورهای میزبان نیز وابسته می‌باشد. به هرحال تجربیات نشان داده که ایمونیزاسیون غیر فعال با آنتی‌بادی‌های بدست آمده از شامپانزه‌های آلوده به HIV، در ماکاک‌ها که با سویه SHIV حامل گلیکوپروتئین پوششی HIV مواجه شده بودند، محافظت ایجاد می‌کند. شاخصی دیگر برای این که آنتی‌بادی‌ها می‌توانند از عفونت جلوگیری کنند، از بررسی‌هایی بدست آمده که در آن آنتی‌بادی منوکلونال از ماکاک‌هایی که از طریق واژینال با SHIV آلوده شده بودند، محافظت می‌نماید. درتمام این موارد، در زمان انجام آزمون، حضور این آنتی‌بادی‌ها ضروری می‌باشند. تزریق آنتی‌بادی پس از آلودگی در پیشگیری از عفونت هیچ تاثیری ندارد.

اگرچه گزارشی از موفقیت کامل در کارآزمایی‌های واکسن انسانی HIV وجود ندارد، اما تحقیق در این زمینه دشوار همچنان ادامه دارد. علیرغم تلاش‌های زیاد، همچنان پیشرفت در حد پایینی باقی مانده است. محصولات بی‌شماری در مراحل ابتدایی در حال آزمون بر روی داوطلبین انسانی می‌باشند. تقریباً ۳۰ واکسن پروتئینی، واکسن‌های DNA و ویروس‌های نوترکیب درحال گذراندن مرحله Iکارآزمایی های بالینی به منظور اطمینان و ایمنی زایی می‌باشند و حدود ۵ کاندید تا مرحله IIکارآزمایی‌های بالینی پیشرفت کرده‌اند که جمعیت بیشتری را در بر گرفته و در برخی موارد، شامل داوطلبین در معرض خطر بالا نیز می‌باشد. مقیاس کارآیی یک واکسن جهت کاندید شدن برای مرحله III کارآزمایی‌های بالینی مستلزم ارزیابی آزمون مرحله III دو واکسن زیر واحدی می‌باشد. این آزمون‌ها پس از ۲۰ سال تحقیق و پیشرفت صورت می‌گیرد و هزینه آن حدود ۳۰۰ میلیون دلار می‌باشد؛ که شامل ۷۸ کلینیک در ۴ کشور می‌باشد و دارای ۱۳۵۳۷۱ بیمار مراجعه کننده بوده، ۱۲۱۱۴ نفر غربال شده و ۷۹۶۳ داوطلب ثبت‌نام کرده‌اند علاوه براین که هیچ‌گونه اثر محافظتی در مورد این واکسن‌ها مشاهده نشد، این آزمون‌ها با برخی از مشکلات مثل تلاش‌های جدی که بایستی صورت گیرد و اطلاعاتی که باید کسب شود

www.bbooks.ir

تا امکان آزمون‌های موفق و تولید محصولات امیدوار کننده را فراهم آورد، نیز همراه بودند و بدین علت به تعویق انداخته شدند.

- خلاصه

- نقص ایمنی در نتیجه اختلال در یک یا چند جزء سیستم ایمنی به وجود می‌آید. نقایص ایمنی اولیه در زمان تولد وجود دارند و نقایص ایمنی ثانویه یا اکتسابی در نتیجه عوامل گوناگونی ایجاد می‌شوند.
- نقایص ایمنی را می‌توان با توجه به انواع سلول‌های درگیر، طبقه‌بندی نمود که ممکن است رده سلولی لنفوئید، میلوئید و یا هر دو را درگیر کند.
- نقص ژنی که منشأ نقص ایمنی اولیه است امکان طبقه‌بندی دقیق را فراهم می‌آورد. نقایص ژنتیکی در مولکول‌های دخیل در انتقال پیام یا ارتباطات سلولی، در بسیاری از نقایص ایمنی مشاهده می‌شود.
- نقص ایمنی لنفوئیدی ، سلول‌های NK،B،T و یا همگی را درگیر می‌سازد. نقص شکل‌گیری تیموس موجب نقص ایمنی شدید شده و می‌تواند تکوین طبیعی سلول‌های B را نیز به تعویق بیاندازد.
- نقص ایمنی میلوئیدی موجب نقص عملکرد فاگوستیوز می‌گردد. افراد مبتلا از افزایش استعداد ابتلا به عفونت باکتریایی رنج می‌برند.
- نقص ایمنی مختلط شدید (SCID) همیشه با نقص عملکرد سلول T همراه بوده وبواسطه نقایص مختلف در رده لنفوئید ایجاد می‌شود؛ معمولاً کشنده می‌باشد.
- کمبود انتخابی ایمونوگلبولین، یکی از نقایص ایمنی خفیف بوده و در نتیجه نقص در انواع سلول‌های تمایز یافته بوجود می‌آید.
- نقص ایمنی را می‌توان با جایگزینی پروتئین، سلول‌ها و یا ژن ناقص یا غایب درمان نمود. تزریق ایمونوگلبولین‌انسانی یک درمان متداول می‌باشد.

www.bbooks.ir

- مدل‌های حیوانی نقص ایمنی، موش‌های nude و SCID می‌باشند. موش‌های با ژن تخریب شده امکان بررسی نقش ژن‌های خاص در عملکرد ایمنی را فراهم کرده‌اند.
- نقایص ایمنی ثانویه در نتیجه آسیب یا عفونت به وجود می‌آیند و معمول‌ترین شکل آن ایدز/HIVبوده که توسط یک رتروویروس (HIV-1) ایجاد می‌شود.
- عفونت HIV-1 عموماً از راه تماس جنسی، از طریق خون و از مادر آلوده به نوزاد انتقال می‌یابد.
- عفونت با HIV-1 موجب نقص ایمنی شدید می‌شود که مشخصهٔ آن، تخلیه کامل سلول‌های $CD4^{+}T$ و مرگ در نتیجه عفونت‌های فرصت طلب می‌باشد.
- درمان عفونت HIV با داروهای ضد رتروویروسی، می‌تواند موجب کاهش بار ویروسی و بهبود عفونت شود، اما هنوز هیچ روشی درمانی کاملی مورد تایید نمی‌باشد.
- تلاش‌ها در جهت ساختن واکسن HIV/ ایدز ، هنوز با موفقیت همراه نبوده است. میلیون‌ها عفونت جدید در سال ۲۰۰۵، مؤید نیاز به یک واکسن کارآمد می‌باشد.

- سئوالات درسی

۱-کدام یک از گزینه‌های زیر درست و کدام یک نادرست می‌باشد . در صورتی که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

الف) سندرم دی جرج یک نقص مادرزادی ناشی از فقدان تیموس می‌باشد.

ب) اگاماگلبولنیمی وابسته به جنس (XLA) یک نقص ایمنی مرکب سلول‌های B و T می‌باشد.

پ) شاخص نقص فاگوستیوز، افزایش حساسیت ابتلا به عفونت‌های ویروسی است.

ت) منشاء بیماری گرانولوماتوز مزمن نقص یک سیتوکروم یا یک پروتئین وابسته می‌باشد.

www.bbooks.ir

ث) تزریق ایمونوگلبولین‌ها موجب درمان افراد مبتلا به آگاماگلبولینمی وابسته به X می‌شود.

ج) نقایص گوناگونی در SCID انسانی شناسایی شده‌اند.

چ) موش‌های مبتلا به SCID فاقد لنفوسیت‌های B و T کارآمد می‌باشند.

ح) موش‌های مبتلا به فنوتیپ شبه SCIDرا می‌توان با تخریب ژن‌های RAG ایجاد نمود.

خ) کودکانی که مبتلا به SCID به دنیا می‌آیند. اغلب عفونت‌های زیادی با باکتری‌های کپسول‌دار را در اولین ماه‌های زندگی نشان می‌دهند.

د) اختلال عرضه مولکول‌های MHC-II و سندرم لنفوسیت برهنه ، تنها روی ایمنی سلولی تاثیر دارد.

۲- برای هریک ازاختلالات نقص ایمنی زیر، درمان مناسب را مشخص کنید.

الف) بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD)

ب) SCID با نقص ADA

پ) آگاماگلبولنیمی وابسته به X

ت) سندرم دی‌جرج

ث) SCID با نقص IL-2R

ج) نقص ایمنی شایع متغیر

درمان:

پیوند کامل مغز استخوان

گاماگلوبولین انسانی

IFN-γ نوترکیب

آدنوزین دآمنیازنوترکیب

پیوند تیموس به نوزاد

www.bbooks.ir

۳- بیماران مبتلا به سندرم افزایش IgM وابسته به X ژن های طبیعی برای سایر زیر نوع‌های آنتی‌بادی را بیان می‌کنند، اما در تولید IgG ، IgA، IgE دچار نقص می‌باشند. توضیح دهید چگونه این نقص در این سندرم مسئول فقدان سایر ایزوتایپ‌های آنتی‌بادی می‌باشد.

۴- بیماران مبتلا به سندروم دی جرج، بدون تیموس به دنیا می‌آیند و یا تیموس آنها کاملاً مختل می‌باشد. بدین ترتیب بیمار نمی تواند سلول‌های Treg, T_C, T_H بالغ ایجاد نماید. اگر یک فرد بالغ در اثر تصادف یا آسیب، تیموس خود را از دست بدهد، نقص سلول T بسیار خفیف‌تر می‌باشد. این پدیده را توضیح دهید.

۵- در گرانولوسیت‌های بیماران مبتلا به LAD میزان عرضه سه مولکول اینتگرینی با نام‌های CR3، CR4 و LFA-1 شدیداً کاهش یافته است.

الف) ماهیت نقص که موجب این نوع کاهش عرضه یا فقدان عرضه این پذیرنده‌ها در بیماران LAD می‌شود چیست؟

ب) عملکرد طبیعی مولکول LFA-1 چیست؟ مثال‌های اختصاصی بیاورید.

۶- ایمونولوژیست‌ها نقص در موش‌های SCID را جهت شناخت اصول مولکولی نقص ایمنی مختلط شدید درانسان بررسی کردند هم موش‌ها و هم انسان‌های مبتلا به SCID، در شکل‌گیری سلول‌های B،T بالغ خود دچار نقص می‌باشند.

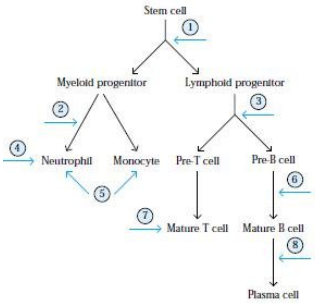
الف) چگونه بازآرایی ژن‌های زنجیره سنگین Ig درموش‌های SCID با موش‌های طبیعی متفاوت می‌باشد؟

ب) در موش‌های SCID بازآرایی ژن زنجیره سبک k صورت نمی‌گیرد. چرا؟

پ) اگر ژن بازآرایی شده و کارآمد زنجیره سنگین μ را به پیش‌سازهای سلول B موش‌های SCID وارد کنید، آیا ژن زنجیره سبک k متحمل بازآرایی می‌شود؟ توضیح دهید.

www.bbooks.ir

۷- شکل زیر برخی از مراحل تکوین سلول‌های سیستم ایمنی را نشان می‌دهد. شماره روی هر پیکان ، نوع سلولی را که عملکرد آن دچار نقص شده یا مراحل تکوینی که در برخی بیماری‌های نقص ایمنی رخ نمی‌دهد را نشان می‌دهد. نوع سلول معیوب یا مرحله تکوینی مرتبط با هریک از بیماری‌های زیر را مشخص کنید. برای هر گزینه تنها یک مورد را انتخاب کنید.



الف) بیماری نقص ایمنی مختلط شدید (SCID)

ب) آگرانولو سیتوزمادرزادی

پ) رتیکولار دیسژنزیس

ت)بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD)

ث) هیپوگاماگلوبولینمی شایع متغیر

ج) آگاماگلوبولینمی وابسته به X (XLA)

چ) نقص چسبندگی لکوسیتی (LAD)

ح) سندرم لنفوسیت برهنه

۸- مشخص کنید کدام یک از گزینه‌های زیر درست و کدام نادرست است. درصورتی که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

الف) HIV-1 و HIV-2 در مقایسه با SIV بسیار به یکدیگر شبیهند.

ب) HIV-1 موجب سرکوب ایمنی در انسان و شامپانزه می‌شود.

www.bbooks.ir

ت) داروهای ضد HIV زیدوودین و ایندنیاویر هردو برای یک مرحله مشترک در چرخه تکثیر ویروس اثر می‌کنند.

ث) فعال شدن لنفوسیت T، نسخه‌برداری از ژنوم پروویروس HIV را افزایش می‌دهد.

ج) بیماران با مراحل پیشرفته ایدز، همیشه آنتی‌بادی ضد HIV قابل اندازه‌گیری دارند.

چ) PCR آزمون حساسی است که جهت شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد HIV استفاده می‌شود.

ح) در صورتی که HAART موفقیت آمیز باشد، بارویروسی کاهش خواهد یافت.

۹- مکانیسم‌های گوناگونی برای کاهش تعداد سلول‌های $CD4^{+}T$ در افراد آلوده به HIV پیشنهاد می‌شود. کدام یک از آنها محتمل‌ترین دلیل به نظر می‌رسند؟

۱۰-آیا انتظار دارید بارویروسی درخون افراد آلوده در مرحله مزمن عفونت HIV تغییر کند؟

۱۱- در صورتی که با رویروس در خون افراد آلوده به HIV افزایش یابد و سطح سلول‌های$CD4^{+}T$ کاهش یابد، این امر نشانگر چه چیزی در عفونت می‌باشد؟

۱۲- چرا پزشکان میزان واکنش آزمون پوستی را در افراد آلوده به HIV پایش می‌کنند؟

۱۳-کموکاین‌های خاصی موجب سرکوب عفونت HIV سلول‌ها می‌شوند و سایتوکاین‌های پیش التهابی خاصی عفونت سلول را افزایش می‌دهند. چه توضیحی برای این امر دارید؟

۱۴- درمان ترکیبی با داروهای ضد HIV (HAART) به طور قابل توجهی میزان ویروس را در برخی بیماران درمان شده کاهش می‌دهد و شروع ایدز را به تأخیر می‌اندازد. در صورتی که یک بیمار ایدزی هیچ‌گونه عفونت فرصت طلبی نداشته و

www.bbooks.ir

ویروس در گردش خون وی قابل تشخیص نباشد، می‌توان این شخص را بهبود یافته تلقی نمود؟

۱۵- تصور کنید پزشکی هستید که دو بیمار آلوده به HIV دارید. بیمار A یک عفونت قارچ (کاندیدیازیس) در دهان دارد و بیمار B یک عفونت مایکوباکتریومی دارد تعداد سلول‌های $CD4^{+}T$ هر دو بیمار حدود ۲۵۰ عدد در هر میلی‌متر مکعب است. آیا شما تشخیص می‌دهید که یکی یا هردوی این بیماران ایدز دارند؟

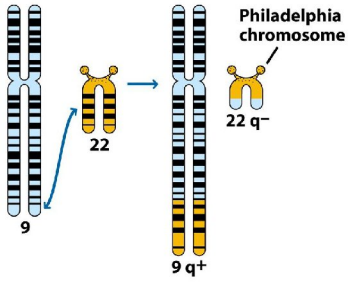
www.bbooks.ir

فصل بیست و یکم

سرطان و سیستم ایمنی

- سرطان، منشأ و واژه‌شناسی
- ترانسفورماسیون بدخیم سلول
- اونکوژن‌ها و ایجاد سرطان
- تومورهای سیستم ایمنی
- آنتی‌ژن‌های توموری
- فرار تومور از سیستم ایمنی
- ایمونوتراپی سرطان

www.bbooks.ir



تلفات مرگبار ناشی از بیماری‌های عفونی در دنیای غرب کاهش یافته است و سرطان در ردیف دومین عامل مرگ در این مناطق قرار گرفته است که تنها بیماری‌های قلبی نسبت به آن جلوتر می‌باشند. برآوردهای معمول نشان می‌دهند که در ایالات متحده، یک سوم افراد، به سرطان مبتلا می‌شوند که $\frac{1}{5}$ آنها در اثر آن، جان خود را از دست می‌دهند. از نظر ایمونولوژی ، سلول‌های سرطانی، سلول‌های تغییر یافته خودی بوده که مکانیسم‌های رشد طبیعی آنها از تنظیم خارج شده است. این فصل، خصوصیات منحصر به فرد سلول‌های سرطانی را بررسی کرده و توجه ویژه‌ای به خواصی از این سلول‌ها دارد که از طریق آنها توسط سیستم ایمنی شناخته می‌شوند. سپس پاسخ‌های ایمنی که علیه سلول‌های سرطانی ایجاد می‌شوند ونیز روش‌های فرار سلول‌های سرطانی از پاسخ‌های ایمنی را توضیح می‌دهیم. در بخش آخر نیز ایمونوتراپی‌های بالینی و تجربی رایج درسرطان را مورد بررسی قرار خواهیم داد.

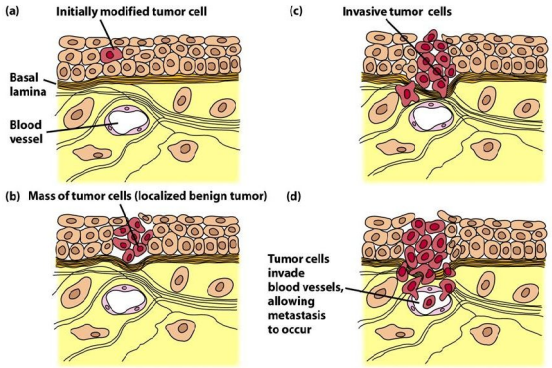
- سرطان، منشأ و واژه‌شناسی

در بسیاری از اعضا و بافت‌های حیوانات بالغ، تعادل میان تجدید سلول و مرگ سلولی حفظ می‌شود. در بدن، انواع مختلف سلول‌های بالغ، طول عمر مشخص دارند و با مرگ آنها، سلول‌های جدید با تکثیر و تمایز انواع مختلف سلول‌های بنیادی به وجود می‌آیند. تحت شرایط طبیعی، تولید سلول‌های جدید به گونه‌ای تنظیم می‌شود که شمار انواع سلول‌ها ثابت

www.bbooks.ir

باقی می‌ماند. گاهی اوقات تصور می‌شود سلول‌های ایجاد شده تنها برای مدت کوتاهی به مکانیسم‌های کنترل رشد طبیعی پاسخ می‌دهند، این سلول‌ها کلون‌هایی را بوجود می‌آورند که ممکن است به صورت قابل ملاحظه‌ای از نظر تعداد و اندازه افزایش یافته و یک تومور یا نئوپلاسم[1] را ایجاد کنند.

توموری که قادر به رشد نامحدود نبوده و نمی‌تواند به بافت‌های سالم پیرامون تهاجم یافته و گسترش یابد، تومور خوش‌خیم[2] نامیده می‌شود. توموری که به رشد خود ادامه داده و مهاجم باشد، بدخیم[3] نامیده‌می‌شود. *واژهٔ سرطان* به یک تومور بدخیم اتلاق می‌شود. علاوه بر رشد کنترل نشده، تومورهای بدخیم، متاستاز[4] را نیز نشان می‌دهند. در این حالت، دسته‌های کوچکی از سلول‌های سرطانی از تومور جدا شده و توسط عروق لنفاوی یا خونی به سایر بافت‌ها منتقل می‌شوند و در آنجا به تکثیر خود ادامه می‌دهند. در این صورت، یک تومور اولیه در یک محل می‌تواند تومور ثانویه را در محل دیگر بوجود آورد. (شکل ۱-۲۱).



شکل مروری ۱-۲۱: رشد تومور متاستازی. (a) یک سلول بافتی با رشد تغییر یافته. (b) تکثیر سلول، تشکیل توده ای از سلول های توموری یا تومور خوش خیم. (c) گسترش سلول های توموری به لایه بازال زیرین. (d) متاستاز تومور بدخیم.

1-neoplasm
2-benign
3-malignant
4-metastasis

www.bbooks.ir

تومورهای بدخیم یا سرطان‌ها را می‌توان برحسب منشأ جنینی بافتی که از آن نشأت گرفته‌اند، طبقه‌بندی نمود. بیشتر این تومورها (۸۰٪<) کارسینوما[1] می‌باشند؛ تومورهایی که از بافت‌های اندودرمی یا اکتودرمی نظیر پوست یا سلول‌های اپی تلیال اعضای داخلی و غدد مشتق می‌شوند، کارسینوما می‌باشند. اکثر سرطان‌های کولون،پستان، پروستات و ریه کارسینوما می‌باشند. لوسمی[2] و لنفوم[3]، تومورهای بدخیم سلول‌های خونساز مغز استخوان بوده و مسئول حدود ۹۰٪ سرطان‌ها در ایالات متحده می‌باشند. در لوسمی‌ها، سلول‌ها به صورت جدا از یکدیگر تکثیر یافته در حالی که در لنفوم، رشد تومور به صورت توده‌ای می‌باشند. سارکوم[4] که شیوع کمتری دارد (حدود ۱٪ سرطان‌های موجود در ایالات متحده) از بافت‌های همبند فرودرم نظیر استخوان، چربی و غضروف نشأت می‌گیرد.

- ترانسفورماسیون بدخیم سلول‌ها

تیمار کشت سلول‌های طبیعی با کارسینوژن‌های شیمیایی، پرتوافکنی و برخی ویروس‌ها، می‌تواند مورفولوژی و ویژگی‌های رشد آنها را تغییر دهد. در برخی موارد به این روند ترانسفورماسیون۵ گفته شده و سلول‌ها را قادر می‌سازد تا در صورت تزریق به حیوانات، تومور ایجاد کنند. چنین سلول‌هایی، دچار ترانسفورماسیون بدخیم شده‌اند و اغلب در in vitro خواص مشابه با سلول‌های سرطانی دارند. برای مثال، این سلول‌ها نیاز اندکی به عوامل رشد و سرم دارند و برای مدت کوتاهی رشد آنها وابسته به تکیه‌گاه بوده و در یک روند مستقل از تراکم، رشد می‌کنند. علاوه براین ، هر دونوع سلول‌های سرطانی و ترانسفورم شده را می‌توان به طور نامحدود کشت داد و از این رو جهت اهداف علمی استفاده نمود. به

1-carcinoma
2-leukemia
3-lymphoma
4- sarcoma
5-transformation

www.bbooks.ir

علت ویژگی‌های مشابه، سلول‌های سرطانی و ترانسفورم شده، روندترانسفورماسیون بدخیم به طور گسترده به عنوان یک مدل سرطان مورد مطالعه قرار گرفته است. عوامل شیمیایی مختلف (مثل عوامل آلکیله کننده DNA و عوامل فیزیکی (مانند اشعهٔ فرابنفش و پرتوهای یونیزه کننده) که موجب جهش می‌شوند، سبب ایجاد ترانسفورماسیون می‌گردند. به نظر می‌رسد ایجاد ترانسفورماسیون بدخیم توسط کارسینوژن‌های شیمیایی و فیزیکی مستلزم چندین مرحله بوده و حداقل دو فاز مشخص دارند؛ شروع و پیشرفت. فاز شروع با تغییراتی در ژنوم همراه می‌باشد که این تغییرات به تنهایی نمی‌توانند منجر به ترانسفورماسیون بدخیم شوند. پس از مرحلهٔ شروع، پروموترها تقسیم سلول را تحریک کرده و این امر منجر به ترانسفورماسیون بدخیم می‌شود. اهمیت جهش‌زایی در ایجاد سرطان، در بیماری‌هایی مثل گزرودرماپیگمنتوزوم۱ مشخص شده است. این اختلال نادر به موجب نقص در ژن کد کنندهٔ آنزیم ترمیم DNA به نام اندونوکلئاز اختصاصی ۲UV به وجود می‌آید. افراد مبتلا به به این بیماری، قادر نیستند جهش‌های ناشی از UV را ترمیم کنند و در نتیجه دچار سرطان‌های پوست می‌شوند.

برخی ویروس‌ها با سرطان‌های انسان و حیوانات آزمایشگاهی ارتباط دارند. ویروس‌های پولیوما و SV40 در حیوانات مورد بررسی قرار گرفته و نقش پروتئین‌های ویروسی آنها در ایجاد ترانسفورماسیون شناخته شده می‌باشد. در هر دو مورد،DNA ژنوم ویروس به طور اتفاقی وارد DNA کروموزوم میزبان می‌شود. SV40 دو پروتئین اولیه به نامT بزرگ و Tکوچک و پولیوماسه پروتئین به نام‌های T بزرگ ، Tمتوسط و T کوچک را کد می‌کند که هریک از آنها در ترانسفورماسیون بدخیم سلول‌های آلوده به این ویروس نقش دارند. سرطان‌های انسانی که کاملاً در ارتباط با عفونت ویروسی می‌باشند شامل:

1-xeroderma pigmentosum
2-uvspecific endonuclease

www.bbooks.ir

- لوسمی / لنفوم سلول T بالغ که در درصد اندکی از افراد آلوده با ویروس لوسمی سلول T انسانی ۱ (HTLV-1) رخ می‌دهد.
- سارکوم کاپوسی که در ارتباط با هرپس ویروس ۸ انسانی (HHV-8) بوده و معمولاً در افرادی که با HIV-1 آلوده می‌شوند نیز رخ می‌دهد.
- کارسینومای دهانهٔ رحم که در ارتباط با یکی از چندین سروتایپ ویروس پاپیلومانی انسانی(HPV) می‌باشد. واکسن HPV در بخش تمرکز بالینی توضیح داده می‌شود.
- کارسینومای کبد که به دنبال عفونت با ویروس هپاتیت B (HBV) رخ می‌دهد.
- عفونت با EBV که در ارتباط با لنفوم بورکیت در افراد آفریقایی وکارسینومای نازوفارنکس درآسیایی‌ها می‌باشد.

از این ویروس‌های مرتبط با سرطان انسانی، HPV, HBV, EBV، ویروس های پولیوما و SV40 از ویروس‌های DNA دار می‌باشند. HTLV-1 نیز از ویروس‌های RNA دار می‌باشد.

یکی از رتروویروس‌های ترانسفورم کننده که به خوبی مطالعه شده ویروس سارکومای راس[1] می‌باشد. این ویروس حامل اونکوژنی با نام v-src بوده که پروتئین کیناز ۶۰ کلیودالتونی v-src راکد می‌کند که سبب فسفریلاسیون تیروزین پروتئین‌ها می‌شود. اولین شاهد مبنی براین که انکوژن‌ها به تنهایی می‌توانند موجب ترانسفورماسیون بدخیم شوند، از مطالعات انکوژن v-src ویروس سارکومای راس به دست آمد. هنگامی که سلول‌های طبیعی در محیط کشت با این انکوژن آلوده شدند، این سلول‌ها دچار ترانسفورماسیون بدخیم شدند.

1-Rous Sarcoma Virus

www.bbooks.ir

- انکوژن‌ها و ایجاد سرطان

در سال ۱۹۷۱ هوارد تمین۱ نشان داد که انکوژن‌ها منحصراً ویروس‌های ترانسفورم کننده نمی‌باشند، بلکه ممکن است در سلول‌های طبیعی نیز یافت شوند. در واقع پیش‌بینی نمود که یک ویروس ممکن است انکوژن‌ها را از ژنوم یک سلول آلوده کسب نماید. وی این ژن‌های سلولی را پروتوانکوژن۲ یا انکوژن‌های سلولی (c-onc) نامید تا آنها را از ژن‌های مشابه ویروس (v-onc) متمایز سازد. در اواسط دهه ۱۹۷۰ بیشاپ۳ و وارموس۴ یک توالی DNA را در سلول‌های طبیعی جوجه شناسایی کردند که مشابه v-src ویروس سارکومای راس بود. به این انکوژن‌های سلولی c-src اتلاق می‌شود. از زمان این کشف تا امروز، انکوژن‌های سلولی بی‌شماری شناخته شده‌اند.

مقایسه توالی‌های انکوژن‌های ویروسی و سلولی نشان می‌دهد که آنها در طی تکامل، بسیار حفاظت شده می‌باشند. اگر چه اغلب انکوژن‌های سلولی حاوی مجموعه‌ای از اگزون‌ها و اینترون‌ها می‌باشند. ولی مشابه‌های ویروسی آنها ، توالی‌های پیوسته دارند که این امر حاکی از این می‌باشد که ویروس می‌تواند این انکوژن‌ها را از طریق نسخه برداری یک RNA حدواسط کسب کرده باشد. توالی‌ها که کننده انکوژن‌های ویروسی و پروتوانکوژن‌های متناظر، همسانی بالایی را نشان می‌دهند. در برخی موارد، تنها یک جهش نقطه‌ای موجب تمایز یک انکوژن ویروسی از یک پروتوانکوژن متناظر می‌باشد. اکنون به نظر می‌رسد که بیشتر (و نه همهٔ) انکوژن‌های سلولی و ویروسی از ژن‌های سلولی کد کننده پروتئین‌های تنظیمی رشد مشتق می‌شوند. علاوه براین ، به نظر می‌رسد پروتئین‌هایی که توسط یک انکوژن سلولی و نیز پروتوانکوژن‌های متناظر آن کد می‌شوند. تبدیل پروتوانکوژن به یک

1-Howard Temin
2-proto-oncogen
3-M.Bishop
4-H.E.Varmus

www.bbooks.ir

انکوژن، در بسیاری از موارد، مسئول تغییر در میزان بیان یک پروتئین تنظیمی رشد طبیعی می‌باشد.

- ژن‌های مرتبط با سرطان، عملکردهای بسیاری دارند.

هومئوستازی در بافت طبیعی ، توسط یک روند بسیار تنظیم شده تکثیر سلولی (متعادل با مرگ سلولی) حفظ می‌شود. در صورت عدم تعادل، چه در مرحلهٔ تکثیر سلولی و چه در مرحلهٔ مرگ سلولی، یک حالت سرطانی به وجود می‌آید. انکوژن‌های و ژن‌های سرکوبگر تومور، نقش مهمی در این فرآیند ایفا می‌کنند. زیرا تکثیر یا مرگ سلولی را تنظیم می‌کنند. ژن‌های مرتبط با سرطان را می‌توان در سه طبقه‌بندی که نشان دهندهٔ فعالیت‌های مختلف آنها می‌باشد قرار داد که در جدول ۱-۲۱ خلاصه شده است.

TABLE 21-1 Functional classification of cancer-associated genes

Type/name	Nature of gene product
CATEGORY I: GENES THAT INDUCE CELLULAR PROLIFERATION	
Growth factors	
sis	A form of platelet-derived growth factor (PDGF)
Growth factor receptors	
fms	Receptor for colony-stimulating factor 1 (CSF-1)
erbB	Receptor for epidermal growth factor (EGF)
neu	Protein (HER2) related to EGF receptor
erbA	Receptor for thyroid hormone
Signal transducers	
src	Tyrosine kinase
abl	Tyrosine kinase
Ha-*ras*	GTP-binding protein with GTPase activity
N-*ras*	GTP-binding protein with GTPase activity
K-*ras*	GTP-binding protein with GTPase activity
Transcription factors	
jun	Component of transcription factor AP1
fos	Component of transcription factor AP1
myc	DNA-binding protein
CATEGORY II: TUMOR SUPRESSOR GENES, INHIBITORS OF CELLULAR PROLIFERATION*	
Rb	Suppressor of retinoblastoma
p53	Nuclear phosphoprotein that inhibits formation of small-cell lung cancer and colon cancers
DCC	Suppressor of colon carcinoma
APC	Suppressor of adenomatous polyposis
NF1	Suppressor of neurofibromatosis
WT1	Suppressor of Wilm's tumor
CATEGORY III: GENES THAT REGULATE PROGRAMMED CELL DEATH	
bcl-2	Suppressor of apoptosis

*The activity of the normal products of the category II genes inhibits progression of the cell cycle. Loss of a gene or its inactivation by mutation in an indicated tumor-suppressor gene is associated with development of the indicated cancers.

www.bbooks.ir

- القای تکثیر سلولی

یک دسته از پروتوانکوژن‌ها و انکوژن های متناظر آنها پروتئین‌هایی را کد می‌کنند که موجب القای تکثیر سلولی می‌شوند. برخی از این پروتئین‌ها به عنوان عوامل رشد یا پذیرنده‌های آنها عمل می‌کنند. از جمله این ژن‌ها sis می‌باشد که نوعی فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت و پروتئین‌های neu, erbB, fms که پذیرنده‌های فاکتور رشد می‌باشد را کد می‌کند. در سلول‌های طبیعی، عوامل رشد و پذیرنده‌های آنها به طور دقیق تنظیم می‌شود. معمولاً یکی از جمعیت‌های سلولی، فاکتور رشدی را ترشح می‌کنند که با تأثیر بر روی جمعیت‌های سلولی حامل پذیرنده این فاکتور موجب تحریک تکثیر جمعیت سلولی دیگری می‌شوند. عرضه نامناسب هریک از عوامل رشد و یا پذیرنده آنها ممکن است منجربه تکثیر کنترل نشده گردد. انکوژن‌های دیگر در این دسته، محصولاتی را کد می‌کنند که در مسیر انتقال پیام عملکرد داشته و یا به عنوان عوامل نسخه برداری کار کرد دارند. انکوژن‌های src ,ab1 تیروزین کینازها را کد می‌کنند و انکوژن ras یک پروتئین متصل شونده به GTP را کد می‌کند. محصولات این ژن‌ها به عنوان پیام‌رسان عمل می‌کنند. فعالیت بیش از حد هریک از این انکوژن‌ها ممکن است منجر به تکثیر تنظیم نشده گردد.

- مهار تکثیر سلولی

دسته دوم ژن‌های مرتبط با سرطان، **ژن‌های سرکوبگر تومور**[1] یا **آنتی‌انکوژن‌ها**[2] می‌باشند که پروتئین‌هایی را کد می‌کنند که موجب مهار تکثیر بیش از حد سلول می‌شوند. غیر فعال شدن این ژن‌ها منجر به تکثیر تنظیم نشده می‌گردد. شاخص این دسته از انکوژن‌ها، Rb (ژن رتینوبلاستوما) می‌باشد. رتینوپلاستومای ارثی یک سرطان نادر دوران کودکی است که در آن تومورها از سلول‌های پیش‌ساز عصبی شبکیه نابالغ به وجود می‌آیند.

1-tumor suppressor genes
2- anti-oncogenes

www.bbooks.ir

کودک مبتلا یک آلل Rb جهش یافته را به ارث برده است و غیر فعال شدن سوماتیک آلل دیگر Rb منجر به رشد تومور می‌شود. احتمالاً بیشترین ناهنجاری ژنتیکی در سرطان انسان، مرتبط با جهش در p53 می‌باشد که یک فسفوپروتئین هسته را کد مـی‌کنـد. بـیش از ۹۰٪ سرطان‌های سلول‌های کوچک ریه و بیش از ۵۰٪ سرطان‌های کولون و پستان در ارتباط بـا جهش در p53 می‌باشند.

- تنظیم مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی

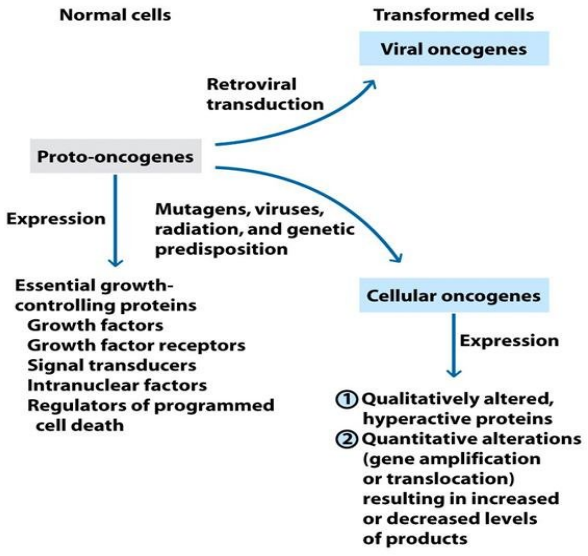
دسته سوم ژن‌های مرتبط با سرطان، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را تنظیم می‌کنند. این ژن‌ها پروتئین‌های را کد می‌کنند که موجب تحریک یا توقف آپوپتوز می‌شوند. از جمله ایـن انکوژن‌ها، bcl-2 می‌باشد. این انکوژن در ارتباط با لنفوم فولیکولی سلول B کشف شـد و بـا کشف آن مشخص گردید که bc1-2 در تنظیم بقای سلولی در طول خونسـازی و همچنـین بقای سلول‌های T,B گزینش شـده در طـی بلـوغ، نقـش مهمـی بـر عهـده دارد. بـه طـور شگفت‌انگیزی، ویروس اپشتین بار حاوی ژنی است که در تـوالی خـود بـا bcl-2 همولـوژی داشته و می‌تواند در روند مشابه، سبب سرکوب آپوتپوز شود.

- پروتوانکوژن‌ها می‌توانند به انکوژن‌ها تبدیل شوند

در سال ۱۹۷۲ هبنر[1] و تودارو[2] نشـان دادنـد کـه جهـش‌هـا یـا بـازآرایی‌هـای ژنتیکـی پروتوانکوژن‌ها توسط کارسینوژن‌ها یا ویروس‌ها می‌توانند سبب تغییر عملکرد تنظیمی طبیعی این ژن‌ها شود و آنها را به اونکوژن‌های بالقوه سرطان‌زا تبدیل نماید (شکل ۲-۲۱).

1-R. J. Huebner
2-G.J. Todaro

www.bbooks.ir



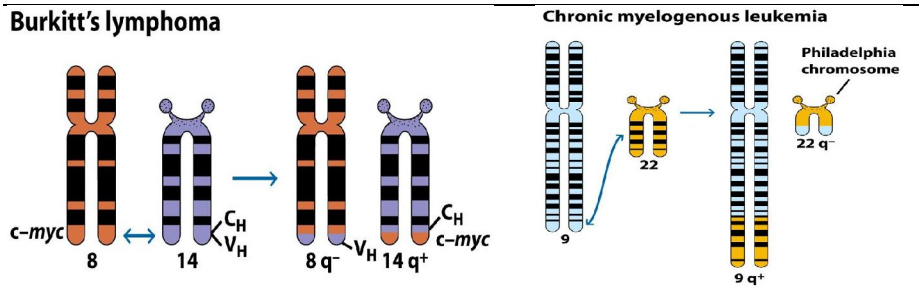
شکل ۲-۲۱: تبدیل پروتوانکوژن ها به انکوژن ها مستلزم جهش و در نتیجه تولید محصولات ژنی مختلف، تکثیر و ترجمه DNA و در نتیجه افزایش یا کاهش بیان محصولات ژنی می باشد.

شواهد به دست آمده در سال‌های بعد، این فرضیه را تأیید کردند. به عنوان مثال، برخی از سلول‌هایی که به طور بدخیم ترانسفورم شده‌اند دارای چندین نسخه از انکوژن‌های سلولی می‌باشند که موجب افزایش محصولات انکوژن می‌گردند. چنین افزایشی در انکوژن‌های سلولی، در انواع سرطان‌های انسانی مشاهده شده است.

چندین گروه، انکوژن‌های c-myc را در **نواحی رنگ‌آمیزی شده به صورت هموژن**[1] کروموزوم سلول‌های سرطانی شناسایی کردند. این HSR ها معرف ردیف‌های طویل و تکراری ژن تکثیر یافته می‌باشند. علاوه براین، برخی سلول‌های سرطانی دچار جابه‌جایی کروموزومی شده‌اند که معمولاً سبب انتقال یک پروتوانکوژن از یک جایگاه کروموزمی به جایگاه دیگر می‌شود (شکل ۳-۲۱).

1-homogeneously staining regions (HSRs)

www.bbooks.ir



شکل ۳-۲۱: جا به جایی کروموزومی در لوسمی میلوئید مزمن (CML) و (پایین) لنفوم بورکیت. سلول های لوسمیک بیماران مبتلا به CML دارای کروموزوم فیلادلفیا می باشند که از جا به جایی بین کروموزوم های ۹ و ۲۲ به وجود آمده است. در سلول های سرطانی بیماران مبتلا به لنفوم بورکیت بخشی از کروموزوم ۸ با کروموزوم ۱۴ جا به جا شده است.

برای مثال در بسیاری از موارد لنفوم بورکیت ، c-myc از جایگاه طبیعی خود بر روی کروموزوم ۸ به یک جایگاه تشدید کننده ژن زنجیره سنگین ایمونوگلوبین بر روی کروموزوم ۱۴ انتقال می‌یابد. در نتیجه این جا به جایی، تولید پروتئین c-myc که به عنوان یک فاکتور نسخه‌برداری عمل‌می‌کند، افزایش می‌یابد. همچنین، جهش در پروتوانکوژن‌ها در ارتباط با ترانسفورماسیون سلولی نیز می‌باشد و می‌تواند مکانیسم عمده‌ای باشد که توسط آن کارسینوژن‌های شیمیایی یا اشعه X موجب تبدیل یک پروتوانکوژن به یک انکوژن سرطان‌زا شود. برای مثال، جهش‌های نقطه‌ای در c-ras ، در سرطان‌های انسانی مثل کارسینومای مثانه، کولون و ریه شناسایی شده است. به نظر می‌رسد برخی از این جهش‌ها موجب کاهش توانایی Ras در تجمع با پروتئین‌های تحریک کنندهٔ GTPase شود و از این طریق موجب تداوم حالت رشد فعال Ras می‌شود.

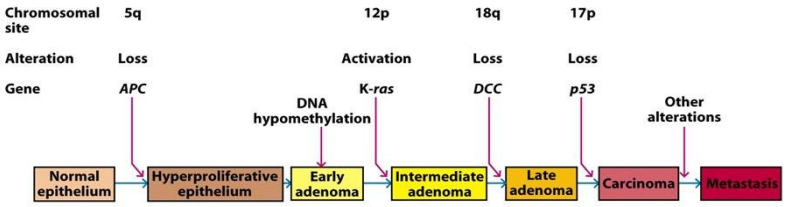
برخی تومورها، به صورت قابل توجهی سبب افزایش بیان عوامل رشد یا پذیرنده‌های آنها می‌شوند. افزایش بیان پذیرندهٔ فاکتور رشد اپی‌درمی که با c-erbBکد می‌شود، در

www.bbooks.ir

بسیاری از سلول‌های سرطانی مشاهده شده است. در سرطان پستان نیز افزایش تولید پذیرنده فاکتور رشد که توسط c-neu کد می‌شود، پیش آگهی ضعیفی دارد.

- ایجاد سرطان یک روند چند مرحله‌ای می‌باشد

تبدیل یک سلول طبیعی به یک سلول سرطانی معمولاً دارای روند چند مرحله‌ای می‌باشد که رشد طبیعی سلول را به حالت پیش سرطانی و درنهایت حالت سرطانی تبدیل می‌کند. وجود هزاران اختلال کروموزومی در سلول‌های سرطانی و پیش سرطانی، نقش جهش‌های چندگانه درایجاد سرطان را نشان می‌دهد. این موضوع در سرطان کولون انسان اثبات شده است که به صورت مجموعه‌ای از مراحل مورفولوژی مشخص، پیشرفت می‌کند. (شکل ۴-۲۱).



شکل ۴-۲۱: مدل تغییر متوالی ژنتیکی که منجر به سرطان متاستازی کلون می شود. هر یک از این مراحل از لحاظ مورفولوژیک متفاوت می باشند.

سرطان کولون به صورت تومورهای کوچکی می‌باشد که آدنومای اپی‌تلیال کولورکتال نامیده می‌شوند. این تومورهای پیش سرطانی ، رشد یافته و به تدریج موجب اختلال روزافزون در سازماندهی داخل سلولی می‌شوند تا این که یک فنوتیپ بدخیم به خود می‌گیرند. مراحل مورفولوژی سرطان کولون درارتباط با چندین تغییر ژنی می‌باشد که سبب غیر فعال شدن یا از دست دادن سه ژن سرکوبگر تومور (P53, DCC, APC) و فعال شدن یک انکوژن تکثیر سلولی K-ras می‌شود.

www.bbooks.ir

مطالعه موش‌های ترانس ژنتیک نیز نقش طراحی چندگانه در ایجاد سرطان را تأیید می‌کنند. موش‌های ترانس ژنیک که مقادیر بالایی از Bc1-2 را بیان می‌کنند، سبب توسعهٔ اندکی از سلول‌های B در حال استراحت که از فولیکول‌های ثانویه لنفوئیدی مشتق شده‌اند، می‌شود و به طور قابل توجهی طول عمر آنها را افزایش می‌دهند و به تدریج در این موش‌های ترانس ژنیک لنفوم ایجاد می‌شود. تجزیه و تحلیل لنفوم این موش‌ها نشان می‌دهد که تقریباً نیمی از آنها دارای یک جابه‌جایی c-myc به جایگاه زنجیره سنگین ایمنوگلبولین می‌باشند. این سینرژیسم Myc و Bc1-2 در موش‌های ترانس ژنیک مضاعف که در نتیجهٔ آمیزش موش‌های ترانس ژنتیک $Bc1\text{-}2^{+}$ و موش‌های ترانس ژنتیک myc^{+} بوجود می‌آیند، به خوبی اثبات شده است. در این موش‌ها، لوسمی بسیار سریع ایجاد می‌شود.

- تومورهای سیستم ایمنی

تومورهای سیستم ایمنی به صورت لوسمی و لنفوم طبقه‌بندی می‌شوند. لنفوم‌ها به صورت تومورهای توپر در اعضای لنفاوی نظیر مغز استخوان، غدد لنفاوی یا تیموس تکثیر می‌یابند و شامل لنفوم‌های هوجکین و غیرهوجکین می‌باشند. لوسمی‌ها تمایل به تکثیر به صورت سلول‌های منفرد داشته و با افزایش شمار سلول‌ها در خون یا لنف مشخص می‌شوند. لوسمی‌ها ممکن است به دودمان های میلوئیدی یا لنفوئیدی گسترش یابند. از آنجایی که سرطان سلول T که در اثر HTLV-1 ایجاد می‌شود ممکن است هم در گردش خون و هم درجمعیت سلول‌های T بافتی رخ دهد، این حالت را لوسمی/ لنفوم سلول T بالغین[1] یا ATLL می‌نامند.

برحسب پیشرفت بالینی بیماری، لوسمی را به صورت مزمن و حاد تقسیم می‌کنند. لوسمی حاد، ناگهانی پدیدار می‌شود و به سرعت پیشرفت می‌کند در حالی که لوسمی مزمن تهاجم

1- adult T-cell leukemia/lymphoma

www.bbooks.ir

کمتری داشته و پیشرفت آهسته ای داشته و به ندرت بیماری‌های علامت‌دار ایجاد می‌کند. این تفاوت‌های بالینی دردرمان لوسمی‌ها درنظر گرفته می‌شوند، لوسمی‌های حاد اغلب پیش‌آگهی خوبی داشته و به طور رایج درمان می‌شوند و اغلب ممکن است بهبودی دائمی حاصل شود. تفاوت عمده بین لوسمی حاد و مزمن، میزان بلوغ سلول‌های مبتلا می‌باشد. لوسمی حاد، بیشتر در سلول‌های با بلوغ کمتر ایجاد می‌شود، در صورتی که لوسمی‌های مزمن بیشتر در سلول‌های بالغ رخ می‌دهند. لوسمی‌های حاد شامل **لوسمی لنفوسیتی حاد**[1] **(ALL)** و **لوسمی میلوئید حاد**[2] **(AML)** می‌باشند؛ این بیماری‌ها ممکن است درهر سنی ایجاد شوند و به سرعت پیشرفت کنند. لوسمی‌های مزمن شامل **لوسمی لنفوسیتی مزمن**[3] **(CLL)** و **لوسمی‌میلوئید مزمن**[4] **(CML)** می‌باشند. این بیماری‌ها به کندی ایجاد شده و به نظر می‌رسد که بیشتر دربالغین رخ دهند.

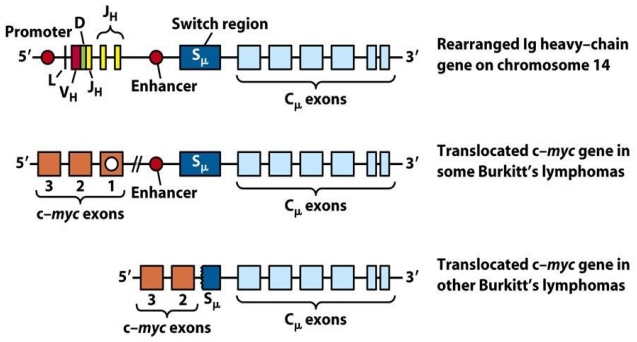
شماری از لنفوم‌ها و لوسمی‌های سلول T,B مستلزم جابه‌جایی پروتوانکوژن‌ها به ژن‌های ایمونوگلبولین یا ژن‌های پذیرنده سلول T می‌باشند. یکی از بارزترین آنها جابه جایی c-myc در لنفوم بورکیت و پلاسما سیتومای موش می‌باشد. در ۷۵٪ بیماران مبتلا بورکیت c-myc از کروموزوم ۸ به ژن زنجیره سنگین Ig بر روی کروموزوم ۱۴ انتقال یافته است (شکل ۳b-۲۱). در سایر بیماران، c-myc بر روی کروموزوم ۸ باقی مانده و ژن‌های زنجیره سبک κ یا λ به ناحیه 3′ c-myc انتقال می‌یابند. در ۹٪ موارد، جابه‌جایی ژن کاپا از کروموزوم ۲ به کروموزوم ۸ رخ داده و در ۱۶٪ موارد نیز جابجایی ژن λ از کروموزم ۲۲ به کروموزوم ۸ رخ می‌دهد.

جابه جایی c-myc به دستهٔ ژنی زنجیره سنگین Ig بر روی کروموزوم ۱۴ آنالیز شده است و در برخی موارد، ژن کامل c-myc به ناحیه مجاور تشدید کننده زنجیره سنگین

1-acute lymphocytic leukemaia (ALL)
2-acute myelogenous leukemia (AML)
3-chronic lymphocytic leukemia (CLL)
4-chronic myelogenous leukemia (CML)

www.bbooks.ir

انتقال می‌یابد. در سایر موارد ، اگزون‌های ۱، ۲ و ۳ یـا ۲و ۳ c-myc بـه مجـاورت جایگـاه سویچ ناحیه Sμ یا Sα انتقال می‌یابند (شکل ۵-۲۱).



شکل ۵-۲۱: در اکثر بیماران مبتلا به لنفوم بورکیت، ژن c-myc با دسته ای از ژن های زنجیره سنگین Ig بر روی کروموزوم ۱۴ جا به جا می شود.

عوارض افزایش بیان myc در سلول‌های لنفوئیدی در موش‌هـای تـرانس ژنتیـک مـورد بررسی قرار گرفته‌اند. در این بررسی موش‌ها حاوی یک ژن انتقالی بودند که از ۳ اگزون c-myc و تشدید کنندهٔ زنجیرهٔ سنگین ایمونوگلبولین بودند. از ۱۵ نوزاد متولد شـده در چنـد ماه پس از تولد، در ۱۳ مورد از آنها لنفوم ردهٔ سلول B ایجاد شد.

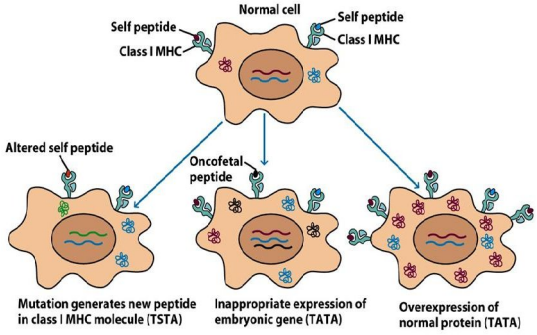
- آنتی‌ژن‌های توموری

اصول ایمونولوژی تومور، شامل مطالعه آنتی‌ژن‌های موجود بـر روی سـلول‌هـای تومـور و پاسخ ایمنی به این آنتی‌ژن‌ها می‌باشد. دو نوع از آنتی‌ژن‌های تومـوری بـر روی سـلول‌هـای توموری شناسایی شده‌اند. **آنتی‌ژن‌های پیونـدی ویـژهٔ تومـور**[۱] **(TSTAs)** و **آنتـی‌ژن‌هـای پیوندی همراه تومور**[۲]**(TATAs)**. آنتی‌ژن‌های ویژه تومور، منحصر به سـلول‌هـای تومـوری

۱-tumor –specific transplantation antigens (TSTAS)
۲-tumor –associated transplantation antigens (TATAS)

www.bbooks.ir

می‌باشند و در سلول‌های طبیعی بدن وجود ندارند. این آنتی‌ژن‌ها ممکن است ناشی از جهش در سلول‌های توموری باشد که سبب تغییر در پروتئین‌های سلولی می‌شوند، پردازش سیتوزولی این پروتئین‌ها منجر به تولید پپتیدهای جدیدی می‌شود که همراه مولکول‌های MHC-I عرضه می‌شوند و موجب پاسخ سلولی CTLهای ویژه تومور می‌شوند (شکل ۶-۲۱).



شکل ۶-۲۱: مکانیسم های مختلف ایجاد آنتی ژن های پیوندی ویژه تومور (TSTAs) و آنتی ژن های پیوندی همراه تومور (TATAs) که آنتی ژن های اخیر رایج تر می باشند.

آنتی‌ژن‌های همراه تومور، منحصر به سلول‌های توموری نبوده و می‌توانند پروتئین‌هایی باشند که در طول تکامل جنینی بر روی سلول‌های طبیعی عرضه می‌شوند و به طور طبیعی بر روی سلول‌های بالغ عرضه نمی‌شوند. فعالیت مجدد ژن‌های جنینی که این پروتئین‌ها را کد می‌کنند، موجب عرضه این پروتئین‌ها بر روی سلول‌های توموری کاملاً تمایز یافته می‌شود. آنتی‌ژن‌های همراه تومور به میزان اندکی بر روی سلول‌های طبیعی وجود دارند اما بر روی سلول‌های توموری به میزان زیاد عرضه می‌شوند. اکنون واضح است که آنتی‌ژن‌های توموری که توسط سلول‌های T انسانی تشخیص داده می‌شوند در یکی از ۴ دسته زیر قرار دارند:

www.bbooks.ir

- آنتی‌ژن‌هایی که توسط ژن‌هایی کد می‌شوند که منحصراً توسط تومورها عرضه می‌شوند.
- آنتی‌ژن‌هایی که توسط انواع واریانت‌های ژن‌های طبیعی که از طریق جهش تغییر یافته‌اند کد می‌شوند.
- آنتی‌ژن‌هایی که به طور طبیعی تنها در مراحل خاصی از تمایز یا تنها توسط رده‌های تمایز یافته خاص عرضه می شوند.
- آنتی‌ژن‌هایی که بیش از حد در برخی تومورها عرضه می‌شوند.

- برخی آنتی‌ژن‌ها، ویژه تومور می‌باشند

آنتی‌ژن های اختصاصی، بر روی تومورهای ایجاد شده توسط کارسینوژن‌های شیمیایی یا فیزیکی و برخی تومورهای ویروسی، شناخته شده‌اند. تعیین حضور آنتی‌ژن‌های اختصاصی که به طور همزمان با ایجاد تومور شکل می‌گیرند، واقعاً دشوارمی‌باشد زیرا پاسخ ایمنی علیه چنین تومورهایی سبب حذف تمام سلول‌های توموری شده و بدین صورت، سلول‌هایی که دارای مقادیر اندکی از این آنتی‌ژن‌ها می‌باشند، گزینش می‌شوند.

- آنتی‌ژن‌های توموری، به طور شیمیایی یا فیزیکی تولید می‌شوند

متیل کلانترن[1] و پرتوفرابنفش، دوکارسینوژنی می‌باشند که به طور گسترده جهت تولید رده‌های سلول توموری استفاده می‌شوند. هنگامی که سلول‌های کشته شده رده سلولی توموری کارسینوژنیک به حیوانات هم‌نژاد تزریق می‌شود، در حیوانات یک پاسخ ایمنی اختصاصی به وجود می‌آید که می‌تواند حیوان را علیه تزریقات بعدی با سلول‌های زنده همان رده سلولی محافظت کند اما در برابر سایر رده‌های توموری محافظت کننده نمی‌باشد (جدول ۲-۲۱).

1-methylcholanterene

www.bbooks.ir

TABLE 21-2 Immune response to methylcholanthrene (MCA) or polyoma virus (PV)*

Transplanted killed tumor cells	Live tumor cells for challenge	Tumor growth
CHEMICALLY INDUCED		
MCA-induced sarcoma A	MCA-induced sarcoma A	–
MCA-induced sarcoma A	MCA-induced sarcoma B	+
VIRALLY INDUCED		
PV-induced sarcoma A	PV-induced sarcoma A	–
PV-induced sarcoma A	PV-induced sarcoma B	–
PV-induced sarcoma A	SV40-induced sarcoma C	+

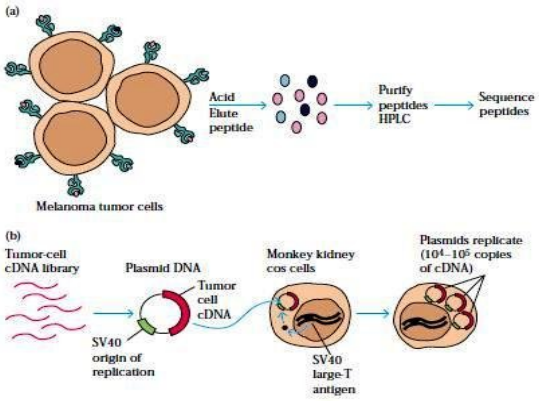
*Tumors were induced either with MCA or PV, and killed cells from the induced tumors were injected into syngeneic animals, which were then challenged with live cells from the indicated tumor-cell lines. The absence of tumor growth after live challenge indicates that the immune response induced by tumor antigens on the killed cells provided protection against the live cells.

حتی هنگامی که توسط کارسنیوژن‌های شیمیایی، دو تومور متفاوت در محل‌های مختلف بدن حیوان ایجاد می شوند،آنتی‌ژن‌های توموری متفاوت بوده و پاسخ ایمنی به یکی از تومورها در برابر تومور دیگر محافظت کننده نمی‌باشد. تشخیص آنتی‌ژن‌های پیوندی ویژه تومور، در تومورهایی که به طور شیمیایی ایجاد می شوند دشوار می‌باشد، زیرا این تومورها را نمی‌توان با آنتی‌بادی ساخته شده تشخیص داد بلکه تنها با پس زدن با واسطهٔ T قابل تشخیص می‌باشند. زمانی که یک رده سلول تومورزای موش (tum^+) که می‌توانند تومورهای پیش رونده ایجاد کنند، در in vitro با یک موتاژن شیمیایی مواجه شوند، برخی سلول‌های جهش یافته توموری به واریانت‌های tum^- تعلق دارند. مشخص شده است که واریانت‌های tum^-، TSTAهایی را عرضه می‌کنند که توسط رده سلولی تومور اصلی tum^+ عرضه نمی‌شوند. هنگامی که سلول‌های tum^- به موش‌های هم‌نژاد تزریق می‌شوند، TSTAهایی که سلول‌های tum^- عرضه می‌کنند، توسط CTLهای اختصاصی شناسایی می‌شوند. CTLهای ویژه TSTA ، سلول‌های توموری tum^- را از بین می‌برند بنابراین، از رشد تومور جلوگیری می‌کنند. جهت تشخیص ژن‌های کد کننده TSTA که بر روی رده

www.bbooks.ir

سلولی tum^- عرضه می‌شود، یک **کتابخانه DNAکاسمید**[1] از سلول‌های tum^- تهیه می‌شود. سلول‌های اصلی tum^+ را باژن‌های سلول‌های tum^- آلوده می‌کنند و سپس سلول‌های tum^+ به منظور عرضهٔ TSTAهای tum^- بررسی و آزمون می‌شوند. برخی از انواع مختلف TSTAها با این روش شناسایی شده‌اند.

در چند سال اخیر، دو روش تشخیص TSTA ها را تسهیل کرده‌اند (شکل ۸-۲۱) .



شکل ۷-۲۱: روشی برای شناسایی ژن های کد کننده آنتی ژن های پیوندی ویژه تومور. اکثر TSTA ها را می توان تنها از روی ویژگی رد پیوند با واسطه سلول شناسایی کرد. در قسمت اول این روش، یک دودمان سلولی غیر تومورزا (tum^-) ایجاد می شود. این دودمان سلولی یک TSTA را عرضه می کند که موش های سینژنیک غیر پاسخ دهنده آن را شناسایی می کنند. جهت جداسازی ژن کد کننده TSTA، یک کتابخانه ژنی کاسمید از دودمان سلولی tum تهیه می شود. این ژن ها به سلول های تومور زا منتقل می شوند و سلول های آلوده با CTL های اختصاصی TSTA انکوبه می شوند.

در یک روش، پپتیدهایی که به مولکول‌های MHC-I موجود برغشای سلول‌های تومـوری متصل شده‌اند، با اسید شسته شده و توسط **کروماتوگرافی مـایع بـا فشـار بـالا**[2] (HPLC) خالص سازی می‌شوند. دربرخی موارد، پپتیدهای شسته شده به اندازه کافی زیاد می‌باشند و

1-cosmid DNA library
2- high-pressure liquid chromatography

www.bbooks.ir

تعیین توالی آنها با روش ادمن امکان‌پذیر می‌باشد. در روش دیگر، کتابخانه‌های cDNA بـه سلول‌های COS (سلول‌های کلیه میمون که با ژن کد کننده آنتی‌ژن Tبزرگ SV40 آلـوده شده‌اند) منتقل می‌شوند. زمانی که این سـلول‌هـا بعـداً توسـط پلاسـمیدهای حـاوی هـر دو cDNA سلول توموری و یک ناحیه شروع همانند سازی SV40آلوده شود بـیش از $۱۰^{۴}$ تـا $۱۰^{۵}$ نسخه از پلاسمید در هر سلول ایجاد می‌شود. مشخص شده که ژن‌هـایی کـه برخـی از این TSTAها را کد می‌کنند، ازژن‌های سلول طبیعی که در آنها یک جهش نقطه‌ای رخ داده است، متفاوت می‌باشند. مشخصات دیگر TSTA ها نشـان مـی‌دهـد کـه بسـیاری از آنهـا پروتئین‌های غشایی نبوده ومعمولاً آنتی‌ژن‌های پپتیدی کوچکی از پـروتئین هـای سـیتوزولی می‌باشند که پردازش شده و توسط مولکول های MHC-I عرضه می‌شند.

- تمرکز بالینی

- واکسنی که از سرطان جلوگیری می‌کند

به جز آنتی‌بادی‌های منوکلونال که به طور اختصاصی سلول‌های سرطانی را مورد هدف قرار می‌دهند (جدول ۳-۲۱) ، بسیاری از ایمونوتراپی‌های پیشنهادی ضد سرطان، نیاز به روش‌های انجام بسیار پیچیده دارند.

www.bbooks.ir

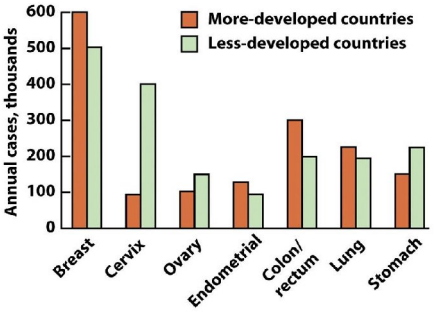
TABLE 21-3 Elevation of alpha-fetoprotein (AFP) and carcinoembryonic antigen (CEA) in serum of patients with various diseases

Disease	No. of patients tested	% of patients with high AFP or CEA levels*
AFP > 400 μg/ml		
Alcoholic cirrhosis	NA	0
Hepatitis	NA	1
Hepatocellular carcinoma	NA	69
Other carcinoma	NA	0
CEA > 10 mg/ml		
Cancerous		
Breast carcinoma	125	14
Colorectal carcinoma	544	35
Gastric carcinoma	79	19
Noncarcinoma malignancy	228	2
Pancreatic carcinoma	55	35
Pulmonary carcinoma	181	26
Noncancerous		
Alcoholic cirrhosis	120	2
Cholecystitis	39	1
Nonmalignant disease	115	0
Pulmonary emphysema	49	4
Rectal polyps	90	1
Ulcerative colitis	146	5

*Although trace amounts of both AFP and CEA can be found in some healthy adults, none would have levels greater than those indicated in the table.

در نتیجه، کاربرد این درمان‌ها در جمعیت‌های در خطر بالا(جمعیت‌های فقیر و توسعه نیافته)غیر ممکن باقی مانده است. در مقابل، واکسن مؤثر، همگانی وارزان به منظور جلوگیری ازرخداد بیش ازحد سرطان ونجات زندگی افراد، ارزش بالایی دارد. مطالعات اخیر بر روی واکسن جلوگیری کننده از ویروس پاپیلوماین انسانی (HPV) نشان می‌دهد که هدف پیشگیری سرطان از این طریق امکان پذیر می‌باشد. هر ساله تقریباً ۵۰۰۰۰۰ زن به سرطان دهانه رحم مبتلا می‌شوند و ۲۷۰۰۰۰ نفر از این بیماری می‌میرند. در ایالات متحده سرطان دهانه رحم در ردیف هفتمین سرطان کشنده قرار دارد، درحالی که درکشورهای کمتر توسعه یافته در ردیف دوم بوده و سرطان پستان مقام اول را دارا می‌باشد. بررسی‌های مکرر دهانه رحم (با استفاده از پاپ اسمیر) جهت تعیین نفوذ غیر طبیعی سلول‌ها به دهانه رحم به طور قابل توجهی این خطر را در زنان کاهش می‌دهد اما یک برنامه مراقبت بهداشتی (پاپ اسمیر منظم) از میان سایر روش‌ها رایج تر می‌باشد.

www.bbooks.ir



شکل تمرکز بالینی ۲۱: شیوع رخداد سرطان در زنان کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه.

HPV[1] بیش از ۹۹٪ سرطان‌های رحم را به خود اختصاص می‌دهد. چندین سروتایپ HPV وجود دارند و عفونت با برخی از این سویه‌ها موجب زخم های مقعدی- تناسلی (زگیل) درمردان و زنان می‌شود. میزان عفونت HPV درجمعیت‌ها بین ۶۰ تا ۷۰ درصد متغیر می‌باشد. مطالعه اخیر دانشجویان زن دانشگاه واشنگتن نشان داد که پس از ۵ سال بیش از ۶۰٪ افراد مورد مطالعه که در زمان ثبت نام در مطالعه HPV منفی بودند، آلوده شدند و بسیاری از عفونت‌ها بدون درمان برطرف شدند. عفونت‌های دائمی منجر به نئوپلازی اینتراپی درمال دهانه رحم می‌شوند که با خطر بالای سرطان مرتبط می‌باشد. از ۱۲ سروتایپ شایع، دو نوع ۱۶ و ۱۸ مسئول بیش از ۷۰٪ سرطان‌های دهانه رحم بوده و از این رو هدف‌هایی برای یک واکسن سرطان می‌باشند. HPV یک ویروس DNAدار می‌باشد که دارای ژنومی حدود ۸ کیلوباز است. این ویروس میزان قابل توجهی اطلاعات را در ژنوم نسبتاً کوچک خود کد می‌کند زیرا از هر سه قالب خواندن جهت نسخه برداری استفاده می‌کند. در بین پروتئین‌های کد شده توسط HPV ، دو پروتئین ساختمانی L1 و L2 و گروهی از پروتئین‌های غیر ساختمانی نظیر E1 تا E7 شناخته شده‌اند. نقش این پروتئین‌ها در ایجاد سرطان به خوبی اثبات شده است. وقایع عمده مربوط به عدم عملکرد طبیعی

1- Human papilloma virus

www.bbooks.ir

آپوپتوز سلول‌های آلوده، با واسطه پروتئین E6 ویروسی می‌باشد. مهار آپوتپوز یک روند سازگار حفاظتی برای ویروس می‌باشد. به طور طبیعی سلول‌های میزبان در پاسخ به عفونت ویروسی بایستی متحمل مرگ آپوپتوزی شوند. پروتئین دیگر ویروس (E7) ژن‌های آغازگر چرخه سلولی را فعال کرده و امکان تکثیر سلول‌های آلوده را فراهم می‌کند. این امر منجر به شکل‌گیری یک سلول آلوده به HPV می‌شود که به راحتی تکثیر یافته و آپوپتوز، توانایی از بین بردن آن را ندارد. به عبارت دیگر یک سلول بالقوه سرطانی ایجاد می‌شود.

بنابراین، برای پیشگیری از سرطان دهانه رحم بایستی از عفونت HPV جلوگیری کرد. پروتئین‌های L1 و L2 ویروس‌ها کاندیدی برای واکسن پیشگیری کننده می‌باشند. زمانی که L1 در رده سلول‌های آلوده بیان می‌شود، به صورت ذراتی تجمع می‌یابد و شکل ویروس را به خود می‌گیرد. این ذرات توخالی، ذرات شبه ویروس یا VLPs[1] نامیده می‌شوند. معمولاً در یک واکسن، VLPs با اداجوانت ترکیب می‌شود. دو محصول کاندید جهت کارآزمایی‌های بالینی وجود دارند؛ یکی شامل VLP متشکل از L1 ویروسی HPV سروتایپ‌های ۶، ۱۱، ۱۶ و ۱۸ که با آلوم به عنوان ادجوانت ترکیب می‌شوند و دیگری VLPهای متشکل از سروتایپ‌های ۱۶ و ۱۸ که با ادجوانت ASO4 ترکیب می‌شود. در واکسن اول سروتایپ ۱۶ و ۱۱، انواع HPV را مورد هدف قرار می‌دهند که موجب زگیل‌های تناسلی در مرد و زن شده و نیز آنهایی که در ارتباط با سرطان دهانه رحم در زنان می‌باشند. حضور مردان در جمعیت واکسینه شده به طور مؤثری به توقف چرخه عفونت در جامعه کمک می‌کنند.

در آزمایش بر روی ۲۰۰۰ زن گروه سنی ۲۰-۱۶ سال، هر دو واکسن مذکور اثرات قابل توجهی درپیشگیری از زگیل‌های تناسلی و عفونت دائم HPV داشته‌اند. انجام و پی‌گیری آزمایش‌ها بر روی گروههای بزرگتر در سراسر جهان، تعیین می‌کند که آیا این واکسن صلاحیت کافی جهت جامعه جهان را دارد یا خیر. هنوز سئوالات مهمی وجوددارند که

1-Virus-like particles

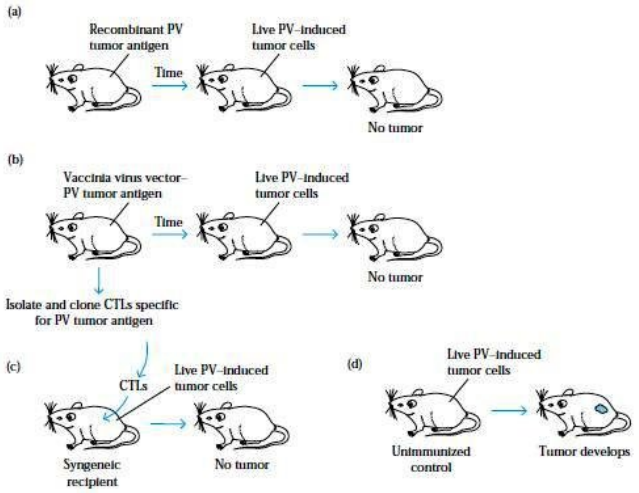
www.bbooks.ir

بایستی پاسخ داده شوند. مثلاً واکسیناسیون باید در چه جوامعی انجام شود. سرعت شیوع HPV در افراد جوان که از لحاظ جنسی فعالند (حتی کسانی که از کاندوم استفاده می‌کنند) حاکی از آن است که زنان جوان بایستی تحت واکسیناسیون قرار بگیرند.

- آنتی‌ژن‌های توموری ممکن است توسط ویروس‌ها به وجود آیند

در مقایسه با تومورهای شیمیایی، تومورهای ویروسی نیز آنتی‌ژن‌های توموری عرضه می‌کنند که در بین تمام تومورهای ایجاد شده توسط همان ویروس، مشترک می‌باشند. برای مثال، هنگامی که سلول‌های کشته شده تومور پولیوما را به موش‌های هم‌نژاد تزریق می‌کنند، موش‌های گیرنده در برابر عوارض ناشی از سلول‌های زنده هر گونه تومور پولیوما، محافظت می‌شوند (جدول ۲-۲۱). همچنین هنگامی‌که لنفوسیت‌های موش مبتلا به یک تومور ویروسی، به موش‌های هم‌نژاد طبیعی منتقل شوند، موش‌های گیرنده، پیوندهای بعدی تمام تومورهای هم‌نژاد که توسط همان ویروس ایجاد می‌شوند را پس می‌زنند. در مورد تومورهای پولیوما و SV40، عرضه آنتی‌ژن‌های توموری در ارتباط با حالت نئوپلاستیک سلول می‌باشد. مشخص شده است که سلول‌های لنفوم بورکیت در انسان، یک آنتی‌ژن هسته‌ای EBV را عرضه می‌کنند که در واقع یک آنتی‌ژن ویژه تومور برای این نوع تومور می‌باشد. پروتئین‌های E6 و E7 ویروس پاپیلومای انسانی (HPV)در بیش از ۸۰٪ سرطان‌های تهاجمی دهانه رحم یافت می‌شوند. ارزش بالقوه این آنتی‌ژن‌های توموری ویروس را می‌توان در مدل‌های حیوانی مشاهده کرد. در یک آزمایش، موش‌هایی که با یک آنتی‌ژن توموری ایمن شدند، به تزریقات بعدی سلول‌های زنده توموری ایمن شدند (شکل ۹-۲۱).

www.bbooks.ir



شکل ۹-۲۱: القای آزمایشگاهی ایمنی علیه سلول های توموری که توسط ویروس پولیوما (PV) تحریک شده اند. (a) ایمنی تومور با ایمن سازی موش ها بوسیله آنتی ژن تومور پولیومای نوترکیب یا (b) با CTL های اختصاصی آنتی ژن تومور حاصل می شود. (c) موش های ایمن نشده با تزریق سلول های توموری القا شده توسط PV زنده دچار تومور می شوند، در حالی که موش های ایمن نشده دچار تومور نمی شوند.

- اکثر آنتی‌ژن‌های توموری، به سلول‌های توموری منحصر نمی‌باشند

اکثر آنتی‌ژن‌های توموری بر روی سلول‌های طبیعی نیز وجود دارند. این آنتی‌ژن‌های پیوندی همراه تومور، ممکن است پروتئین‌هایی باشند که به طور معمول بر روی سلول‌های جنینی عرضه شده و برروی سلول‌های طبیعی بالغین بارز نمی‌شوند و یا شامل آنهایی می‌باشند که به میزان کم توسط سلول‌های طبیعی و به میزان بیشتر توسط سلول‌های توموری عرضه می‌شوند. دسته دیگر شامل انواع عوامل رشد و پذیرنده‌های آنها و پروتئین‌های کد شده توسط انکوژن‌ها می‌باشند.

چندین پذیرنده عوامل رشد به میزان قابل توجهی بر روی سلول‌های توموری عرضه شده وممکن است به عنوان آنتی‌ژن‌های همراه تومور تلقی شوند. برای مثال، برخی سلول‌های

www.bbooks.ir

توموری پذیرنده فاکتور رشد اپی‌درمی[۱] (EGF) را ۱۰۰ بـار بیشـتر از سـلول‌هـای طبیعـی عرضه می‌کنند. نمونه دیگر از فاکتورهای رشدی که بیش از حد عرضه شده و به عنوان یک آنتی‌ژن همراه تومور در نظر گرفته می‌شود، فاکتور رشد ترانسفرین معروف به P97 می‌باشد که در انتقال آهن به داخل سلول نقش دارد. در حالی که سلول‌های طبیعی، کمتـر از ۸۰۰۰ مولکول P97 را در هر سلول عرضه می‌کنند، سلول‌های ملانوما ۵۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ مولکول P97 را عرضه می‌کنند.

- آنتی‌ژن‌های توموری انکوفتال[۲]

این آنتی‌ژن‌ها همانطور که از نامشان پیداست، نه تنها بر روی سلول‌های سرطانی، بلکه بر روی سلول‌های طبیعی جنین نیز حضور دارند. این آنتی‌ژن‌ها در مراحل اولیه تشکیل جنین و پیش از این که سیستم ایمنی صلاحیت ایمنی را کسب کند، پدیدار می‌شوند؛ در صورتی که این آنتی‌ژن‌ها پس از این دوره بر روی سلول‌های سرطانی پدیدار شوند، به عنوان غیرخودی شناخته شده و سبب ایجاد یک پاسخ ایمنی می‌شوند. دو نوع آنتی‌ژن توموری انکوفتال که به خوبی مورد بررسی قرار گرفته‌اند شامل **آلفا- فیتوپروتئین**[۳] (AFP) و **آنتی‌ژن کارسینومای جنین**[۴] (CEA) می‌باشند.

اگرچه غلظت سرمی AFP از مقادیر میلی‌گرم در سرم جنین به نانوگرم در سـرم بـالغین طبیعی کاهش می‌یابد، ولی در اکثر بیماران مبـتلا بـه سـرطان کبـد، میـزان AFPافـزایش می‌یابد(جدول ۴-۲۱).

۱- Epidermal Growth Factor
۲- oncofetal tumor antigens
3- alpha-fetoprotein
4- carcino embergonic antigen

www.bbooks.ir

TABLE 21-4 Monoclonal antibodies approved for the treatment of human cancers

Name	Trade name	Used to treat	Year approved
Rituximab	Rituxan	Non-Hodgkin's lymphoma	1997
Trastuzumab	Herceptin	Breast cancer	1998
Gemtuzumab ozogamicin*	Mylotarg	Acute myelogenous leukemia (AML)	2000
Alemtuzumab	Campath	Chronic lymphocytic leukemia (CLL)	2001
Ibritumomab tiuxetan*	Zevalin	Non-Hodgkin's lymphoma	2002
Tositumomab*	Bexxar	Non-Hodgkin's lymphoma	2003
Cetuximab	Erbitux	Colorectal cancer, head and neck cancers	2004 2006
Bevacizumab	Avastin	Colorectal cancer	2004

*Conjugated monoclonal antibodies

CEA یک گلیکوپروتئین غشایی است که بر روی سلول‌های گوارشی و کبد جنین ۶-۲ ماهه وجود دارد. تقریباً ۹۰٪ بیماران مبتلا به سرطان پیشرفته کولورکتال و ۵۰٪ بیماران مبتلا به سرطان اولیه کولورکتال، مقادیر بالایی از CEA را در سرم خود دارند؛ برخی بیماران مبتلا به سایر انواع سرطان نیز میزان CEAسرمی افزایش یافته دارند. با این وجود، بدلیل این که CEA و AFP ممکن است در مقادیر بالا در برخی بالغین طبیعی و برخی مراحل بیماری‌های غیر سرطانی نیز یافت شوند، حضور این آنتی‌ژن‌های توموری انکوفتال شاخصی جهت تشخیص تومورها نمی‌باشند. اما به طور نسبی درپایش رشد تومور به کار گرفته می‌شوند.

- پروتئین‌های انکوژن به عنوان آنتی‌ژن‌های توموری

مشخص شده است که برخی از تومورها، آنتی‌ژن‌های همراه توموری را عرضه می‌کنند که توسط انکوژن‌های سلولی کد می‌شوند. این آنتی‌ژن‌ها در سلول‌های طبیعی نیزعرضه می‌شوند که توسط پروتوانکوژن‌های متناظر کد می‌گردند. در بسیاری از موارد، هیچ تفاوت کمّی بین محصولات انکوژن و پروتوانکوژن وجود ندارد بلکه میزان بالای محصولات انکوژن و پروتوانکوژن توسط سیستم ایمنی شناسایی می‌شوند. برای مثال ، چنانچه پیش‌تر اشاره شد، سلول‌های سرطان پستان انسانی، مقادیر بالای پروتئین Neu (یک پذیرنده عامل رشد) را

www.bbooks.ir

عرضه می‌کنند. به علت این اختلاف در مقدار Neu ، آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد Neu را می‌توان تولید نمود و سلول‌های سرطانی پستان را به طور انتخابی و بدون آسیب به سایر سلول‌های طبیعی از بین برد.

TATA - های ملانومای انسانی

چندین آنتی‌ژن پیوندی همراه تومور بر روی ملانوماهای انسان شناخته شده‌اند. پنج مورد از آنها، MAGE-1 ، MAGE-3 ، BAGE، GAGE-1 و GAGE-2 از آنتی‌ژن‌های توموری انکوفتال می‌باشند. هریک از این آنتی‌ژن‌ها بر روی جمعیت عمده‌ای از تومورهای ملانوماهای انسان بارز می‌شوند و همچنین روی سایر تومورهای انسان نیزعرضه می‌شوند اما بر روی هیچ بافت تمایز یافته طبیعی به جز بیضه‌ها وجود ندارند. علاوه بر این ، برخی از آنتی‌ژن‌های تمایز یافته بر روی ملانوسیت‌های طبیعی مثل تیروزنیاز، gp100، Melan-A یا MART-1 و gp75 توسط سلول های ملانوما به میزان بالایی عرضه می شوند و آنها را قادر می‌سازد تا به عنوان آنتی‌ژن‌های پیوندی همراه تومور عمل کنند.

چندین آنتی‌ژن تومور ملانومای انسان با برخی دیگر از تومورها مشترک می‌باشند. حدود ۴۰٪ ملانوماهای انسانی از لحاظ حضور MAGE-1 مثبت بوده و حدود ۷۵٪ آنها از لحاظ 3 و MAGE2 مثبت می‌باشند. علاوه بر ملانوما، درصد قابل توجهی از رده‌های سلولی گلیوما، تومورهای پستان ، تومورهای سلولی کوچک غیر ریوی و کارسینومای سرو گردن ، 3 و MAGE-2 را عرضه می‌کنند. این آنتی‌ژن‌های توموری مشترک را می‌توان به منظور درمان بالینی به کار گرفت و امکان تولید واکسن توموری از آنتی‌ژن‌های مشترک برای درمان برخی از این تومورها وجود دارد که در پایان این فصل شرح داده می‌شوند.

www.bbooks.ir

- تومورها ممکن است پاسخ ایمنی قوی ایجاد کنند

درحیوانات آزمایشگاه می‌توان نشان داد که آنتی‌ژن های توموری که هر دو پاسخ ایمنی سلولی و هومورال را ایجاد می‌کنند، سبب تخریب سلول‌های توموری می‌شوند. به نظر می‌رسد پاسخ سلولی، نقش اساسی در این امر داشته باشد. مشخص شده است که برخی تومورها، CTLهای اختصاصی تومور را تحریک کرده که آنتی‌ژن های توموری عرضه شده در کنار مولکول‌های MHC-I را تشخیص دهند. با این وجود، چنان که توضیح خواهیم داد عرضه مولکول‌های MHC-I در برخی از تومورها کاهش می‌یابد و از این طریق نقش CTLهای اختصاصی را محدود می‌سازد.

- سلول‌های NK و ماکروفاژها، در تشخیص تومور اهمیت دارند

تشخیص سلول‌های توموری توسط سلول‌های NK محدود به MHC نمی‌باشد، بنابراین با کاهش عرضه MHC که در برخی از سلول‌های توموری رخ می‌دهد، به فعالیت این سلول‌ها خدشه‌ای وارد نمی‌شود. در برخی از موارد، پذیرنده‌های Fc روی سلول‌های NK می‌توانند به سلول های توموری پوشیده شده با آنتی‌بادی متصل شده و سبب ADCC شوند. اهمیت سلول‌های NK در ایمنی تومور، از بررسی روی سویه‌های جهش یافته موش با نام beige و **سندرم چدیاک هیگاشی** در انسان، مشخص می‌شود. در هر دو مورد ، یک نقص ژنتیکی موجب اختلال در عملکرد سلول‌های NK و افزایش بروز برخی سرطان‌ها می‌شود.

مشاهدات متعددی نشان می‌دهند که ماکروفاژهای فعال نیز نقش عمده‌ای در پاسخ ایمنی نسبت به تومورها ایفا می‌کنند. برای مثال، ماکروفاژها اغلب به صورت خوشه‌ای اطراف تومورها مشاهده می‌شوند و وجود آنها اغلب در ارتباط با پسرفت تومور می‌باشد. همانند سلول‌های NK ، ماکروفاژها نیز محدود به MHC نبوده و پذیرنده‌های FC را عرضه می‌کنند. فعالیت ضد توموری ماکروفاژهای فعال شده احتمالاً در نتیجه آنزیم‌های لیتیک و واسطه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن می‌باشد. به علاوه، ماکروفاژهای فعال شده ، سایتوکانی

www.bbooks.ir

با نام TNF-α ترشح می‌کنند که فعالیت ضد تومـوری قـوی دارد. تزریـق TNF-α بـه حیوانات مبتلا به تومور موجب مشاهده خونریزی و نکروز تومور می‌گردد.

- فرار تومور از سیستم ایمنی

اگرچه سیستم ایمنی می‌تواند به سلول‌های توموری پاسخ دهد اما این حقیقت که هر ساله افراد بسیاری از سرطان می‌میرند حاکی از آن است که پاسخ ایمنی به سلول‌هـای تومـوری کارآمد نمی‌باشد. در این بخش چنـدین مکانیسـم را کـه بـه نظـر مـی‌رسـد از آن طریـق سلول‌های توموری از دست سیستم ایمنی قرار می‌کنند را توضیح می‌دهیم.

- آنتی‌بادی‌های ضد توموری می‌توانند رشد تومور را افزایش دهند.

به دنبال کشف این که بر ضد آنی‌ژن‌های توموری، آنتی‌بادی تولید می‌شود، تـلاش‌هـایی جهت ایجاد حفاظت حیوانات علیه رشد تومور از طریق ایمونیزاسـیون فعـال یـا غیـر فعـال صورت گرفته است. برای محققین بسیار شگفت‌انگیز اسـت کـه ایمونیزاسـیون علیـه رشـد تومور ، حفاظت کننده نبوده و در بسیاری از موارد، رشد تومـور را نیـز افـزایش مـی‌دهـد. هلستروم[1] با نشان دادن این که کودکان مبتلا به نوروبلاستومای پیش رونده مقادیر بالایی از انواع عوامل مهاری را در سرم خود دارند، این یافته‌هـا را گسـترش داد. بـا توجـه بـه ایـن گزارشات اولیه، مشخص شد که عوامل مهاری با شماری از تومورهای انسانی ارتباط دارند.

در برخی موراد، آنتی‌بادی ضد تومور به عنوان یک عامل مهاری عمل می‌کند. مثلاً ، ایـن آنتی‌بادی به آنتی‌ژن‌های ویژه تومور اتصال یافته و این آنتی‌ژن‌ها را از سلول‌های Tc مخفـی می‌کنند. در بسیاری از موارد، این عوامل مهار کننده تنها آنتی‌بـادی نبـوده بلکـه مجموعـه آنتی‌بادی‌ها به آنتی‌ژن‌های توموری می‌باشند. اگر چه این مجموعه های ایمنی پاسـخ CTL

۱- K. E. Hellstrom

www.bbooks.ir

را مهار می‌کنند ولی مکانیسم این نوع مهار شناخته نشده است. این مجموعه‌ها همچنین می‌توانند از طریق اتصال به پذیرنده‌های Fc سلول‌های NK و ماکروفاژها و مهار فعالیت آنها، ADCC را مهار کنند.

- آنتی‌بادی‌ها می‌توانند آنتی‌ژن‌های توموری را تعدیل کنند

مشاهده شده است که آنتی‌ژن‌های ویژه تومور در حضور آنتی‌بادی سرم از سطح سلول‌های توموری ناپدید شده و پس از این که آنتی‌بادی از بین رفت، دوباره پدیدار می‌شوند. این پدیده ، تعدیل آنتی‌ژن۱ نامیده می‌شود و بلافاصله پس از این که سلول‌های T لوسمیک به موش‌هایی که قبلاً با آنتی‌ژن سلول T لوسمیک (آنتی‌ژن TL) ایمن شده بودند، مشاهده شد. در این موش‌ها، تیتر بالایی از آنتی‌بادی ضد TL به وجود می‌آید که به آنتی‌ژن TLموجود برروی سلول‌های لوسمیک متصل شده و موجب کلاه‌دار شدن ، اندوستیوز و یا ریزش مجموعه‌های آنتی‌ژن – آنتی‌بادی می‌شوند. مادامی که این آنتی‌بادی وجود دارد، سلول‌های T لوسمیک آنتی‌ژن TL را عرضه نکرده و در نتیجه ، توسط آنتی‌بادی از بین نمی‌روند.

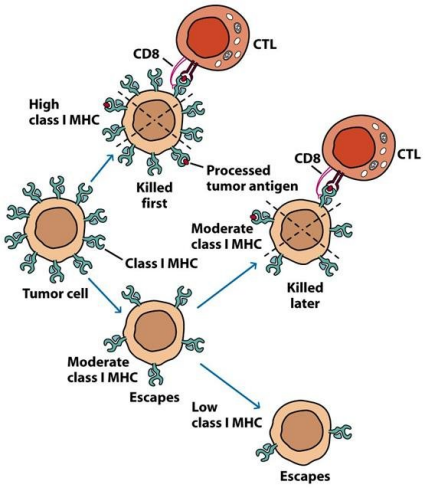
- سلول‌های توموری اغلب موارد اندکی از مولکول‌های MHC-I عرضه می‌کنند

از آنجایی که سلول‌های $CD8^+$ CTL تنها آنتی‌ژن‌های همراه با مولکول‌های MHC-I را تشخیص می‌دهند، هر گونه تغییر در عرضه مولکول‌های MHC-I بر روی سلول‌های توموری ممکن است موجب اثرات قابل توجهی بر روی پاسخ ایمنی با واسطه CTL شود. ترانسفورماسیون بدخیم سلول‌ها اغلب در ارتباط با کاهش یا حتی فقدان کامل مولکول‌های MHC-I بوده و مشخص شده است برخی از تومورها مقادیر اندکی از مولکول‌های MHC-I را عرضه می‌کنند. چنان‌چه در تصویر ۱۰-۲۱ می‌بینید، خود پاسخ ایمنی ممکن است در

۱- antigenic modulation

www.bbooks.ir

گزینش سلول‌های توموری با MHC-I کاهش یافته نقش داشته باشد. کاهش عرضه مولکول‌های MHC-I اغلب با رشد پیشرونده تومور همراه می‌باشد و فقدان مولکول‌های MHC بر روی سلول‌های توموری معمولاً نشان از یک پیش آگهی ضعیف دارد.



شکل ۱۰-۲۱: کاهش تنظیمی عرضه MHC-I بر روی سلول های توموری امکان فرار تومور را از شناسایی بواسطه CTL فراهم می آورد.

- سلول‌های توموری ممکن است پیام‌های کمک تحریکی ضعیفی ایجاد کنند

فعال شدن سلول T مستلزم دو پیام فعال کننده می‌باشد که با شناسایی یک مجموعه پپتید- MHC توسط پذیرنده سلول T آغاز می‌شود و یک پیام کمک تحریکی که با واکنش B7 سطح سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن با CD28 سطح سلول‌های T ایجاد می‌شود. هر دو پیام جهت تولید IL-2 و تکثیر سلول‌های T ضروری می‌باشند. ایمنی‌زایی ضعیف بسیاری از سلول‌های توموری ممکن است تا حد زیادی در نتیجه فقدان مولکول‌های کمک تحریکی باشد.

www.bbooks.ir

- ایمونوتراپی سرطان

ایمونوتراپی سرطان به چندین شکل صورت می‌گیرد. این نوع درمان ممکن است مستلزم تقویت عمومی سیستم ایمنی با استفاده از یک ادجوانت، یک ساتیوکاین یا یک روش اختصاصی تر نظیر آنتی‌بادی منوکلونال علیه یک آنتی‌ژن ویژه تومور باشد. در بخش‌های بعد، عوامل ایمونوتراپی که جهت استفاده در انسان مورد تأیید قرار گرفته‌اند ونیز چندین روش پیشرفته که محصولات مفیدی از لحاظ بالینی برای مبارزه با سرطان در آینده فراهم می‌سازند را توضیح می‌دهیم.

- دست کاری پیام‌های کمک تحریکی می‌توانند موجب تقویت ایمنی شود

چندین گروه تحقیقاتی نشان دادند که ایمنی سرطان را می‌توان با فراهم آوردن پیام ضروری جهت فعال‌سازی پیش‌سازهای CTL(CTLPs)تقویت کرد. زمانی که CTL-Ps موش‌ها در in vitro با سلول‌های ملانوما انکوبه می‌شوند، آنتی‌ژن شناسایی می‌شود، اما در غیاب پیام‌های کمک تحریکی CTL-Ps به CTLهای اجرایی، تکثیر و تمایز نمی‌یابند. با این وجود هنگامی که سلول‌های ملانوما با ژن کد کنندهٔ B7 آلوده شوند، CTL-Ps به CTLهای اجرایی تمایز می‌یابند.

این یافته‌ها نشان می‌دهند که سلول‌های توموری را احتمالاً می‌توان برای ایجاد پاسخ CTLدر in vitro به کار برد. برای مثال، وقتی لینسلی[1]، چن[2] و همکارانشان سلول های ملانومای $B7^+$ را به موش‌ها تزریق کردند، در بیش از ۴۰٪ موش‌ها، ملانوماها به طور کامل پسرفت کردند.

از آنجایی که آنتی‌ژن‌های ملانومای انسان با برخی از آنتی‌ژن‌های سایر تومورهای انسانی مشترک است، امکان تولید یک سری از رده سلول‌های ملانومایی آلوده با B7 که از لحاظ

1- P. Linsley
2- L. Chen

www.bbooks.ir

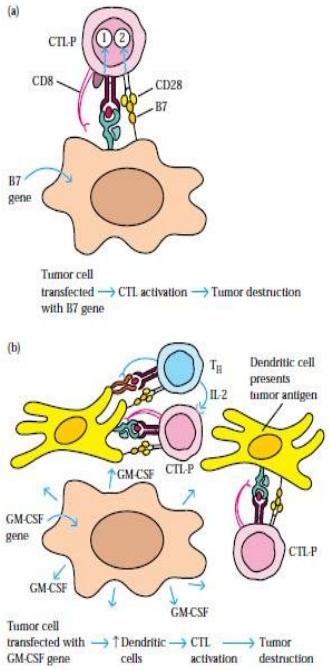
بیـان آنتـی‌ژن تومـوری و عرضـهٔ HLA مشـخص مـی‌باشـند، وجـود دارد. در ایـن روش، آنتی‌ژن‌های توموری که توسط تومور بیماران عرضه می‌شود را مـی‌تـوان شناسـایی کـرد و می‌توان بیمار را با یک رده سلولی پرتوتابی شده و آلوده به B7 کـه آنتـی‌ژن‌هـای تومـوری مشابهی را عرضه می‌کنند. واکسینه نمود.

- تقویت فعالیت APC ها می‌تواند ایمنی تومور را تعدیل نماید

سلول‌های دندرتیک مـوش کشـت داده شـده در حضـور GM-CSF همـراه بـا قطعـات توموری و سپس تزریق آنها به مـوش‌هـا، مشـخص سـاخت کـه هـر دو سـلول‌هـای T_H و CTLهای توموری، فعال می‌گردند. زمانی که موش‌ها دوباره با سلول‌های زنده توموری تیمار شدند، بر علیه تومور ایمن شده بودند. این آزمایش‌ها منجر به ایجاد چندین روش به منظور بسط و گسترش جمعیت سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن شد، به طوری کـه ایـن سـلول‌هـا بتوانند سلول‌های T_Hو CTL اختصاص آنتی‌ژن‌های توموری را فعال کنند.

یکی از این روش‌ها، آلوده کردن سلول‌های توموری با ژن کد کننده GM-CSFمـی‌باشـد. زمانی که این سلول‌های توموری مهندسی شده به یک بیمار تزریق شوند، GM-CSF ترشح خواهند کرد که موجب افزایش تمایز و فعال شدن سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن میزبـان به ویژه سلول‌های دندریتیک می‌شود. چنانچه این سلول‌های دندریتیک اطـراف سـلول‌هـای توموری تجمع یابند، GM-CSF ترشح شده از سلول‌های تومـوری موجـب عرضـه کارآمـد آنتی‌ژن‌های توموری توسط سلول‌های دندریتیک به سلول‌هـای T_H و CTLمـی‌شـود(شـکل ۲۱-۱۱b).

www.bbooks.ir



شکل ۱۱-۲۱: استفاده از سلول های توموری در ایمونوتراپی سرطان. (a) سلول های توموری آلوده با ژن مولکول کمک تحریکی B7. (b) آلوده ساختن سلول های تومور با ژن کد کننده GM-CSF که موجب ترشح مقادیر زیادی از GM-CSF می شود. این سایتوکاین در مجاورت تومور، سلول های دندریتیک را فعال کرده و موجب عرضه آنتی ژن های توموری توسط این سلول ها به سلول های T_H و CTL-P ها می شود.

یک روش دیگر، جهت گسترش جمعیت سلول‌های دندریتیک، کشت پیش‌ساز سلول‌های دندریتیک خون محیطی درحضور GM-CSF ، TNF-α و IL-4 می‌باشد. این سه سایتوکاین موجب تحریک شمار بسیاری از سلول‌های دندریتیک می‌شوند. در صورتی که این سلول‌های دندریتیک با قطعات تومور ترکیب شوند و سپس به بیمار منتقل گردند، می‌توانند T_H و سلول‌های Tc ویژه آنتی‌ژن‌های توموری را فعال سازند.

برخی از ادجوانت‌ها نظیر سویه‌های تخفیف حدت یافته *مایکوباکتریوم بوویس* (BCG) و *کورینه باکتریوم پاروووم* جهت تقویت ایمنی تومور مورد استفاده قرار می‌گیرند. این

www.bbooks.ir

ادجوانت‌ها، ماکروفاژها را فعال ساخته و بیان سایتوکاین‌های مختلف را افزایش می‌دهند و این امر سبب افزایش عرضه مولکول‌های MHC-II و مولکول‌های کمک تحریک B7 می‌شود. ماکروفاژهای فعال شده ، فعال کننده‌های بهتری برای سلول‌های T_H بوده و موجب افزایش عمومی هر دو پاسخ سلولی و هومورال می‌شوند. از موارد فوق، تاکنون تنها ادجوانت‌ها نتایج درمانی نسبتاً ضعیفی را نشان داده‌اند.

- درمان با سایتوکاین می‌تواند پاسخ‌های ایمنی به تومور را تقویت کند

جدا سازی و کلون کردن ژن سایتوکاین‌های مختلف، تولید آنها را در مقادیر بالا تسهیل کرده است. انواع روش‌های بالینی و تجربی به منظور استفاده از سایتوکاین‌های نوترکیب جهت تقویت پاسخ ایمنی علیه تومور بوجود آمده است. سایتوکاین‌هایی که در ایمونوتراپی سرطان با ارزش می‌باشند شامل ، IFN-α,β ,γ ، GM-CSF ، TNF و ILهای 2، 4 ، 6 و 12می‌باشند. این محصولات آزمایشگاهی، گاهی نتایج امیدوار کننده‌ای داشته‌اند به طوری که IL-2 به تنهایی و یا همراه با عوامل دیگر مثل IFN-α برای استفاده در سرطان پیشرفته کلیه و ملانومای متاستاتیک مورد تأیید واقع شده است.

موانع موجود در درمان با سایتوکاین، پیچیدگی خود شبکه سایتوکاینی می‌باشد که شناخت دقیق چگونگی مداخله یک سایتوکاین نوترکیب بر تولید سایرسایتوکاین‌ها را دشوار ساخته است. علاوه براین، ایمونوتراپی توسط سایتوکاین با مشکل تجویز مقادیر بالای یک سایتوکاین روبرو است که موجب عواقب شدید و حتی تهدید کنندهٔ حیات می‌شود.

- اینترفرون‌ها

امروزه مقادیر فراوانی از اینترفون‌های خالص نوترکیب IFN-α ، IFN-β و IFN-γ موجود می‌باشد. از بین اینها، تنها IFN-α برای استفاده در سرطان انسانی مثل چندین نوع سرطان لنفوئیدی (لوسمی سلول مویی، لوسمی میلوئید مزمن، لنفوم پوستی سلول T و لنفوم

www.bbooks.ir

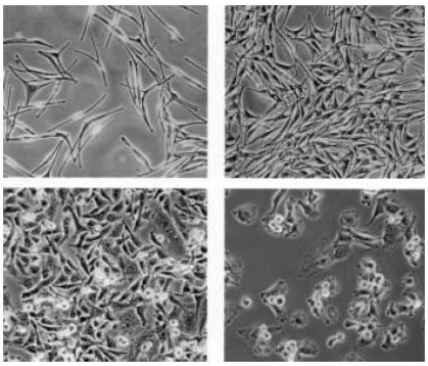
غیرهوجکین) و تومورهای توپر مثل ملانوما، کارسینومای هوجکین و سرطان کلیه مورد تأیید می‌باشد.

فعالیت ضد توموری اینترفرون شامل چندین مکانیسم می‌باشد. هر سه نوع اینترفرون‌ها موجب افزایش عرضه MHC کلاس I بر روی سلول‌های توموری می‌شوند. همچنین مشخص شده است که IFN-γ عرضه مولکول‌های MHC-II را بر روی ماکروفاژها افزایش می‌دهد. با توجه به شواهد، اینترفرون‌ها ممکن است کاهش میزان بیان MHC-I بر روی سلول‌های توموری بدخیم را به حالت اول بازگردانند، از این رو فعالیت CTL ها علیه تومور را افزایش می‌دهند. علاوه براین نشان داده شده است که IFNها تکثیر سلول‌های بدخیم و طبیعی را در in vitro مهار می‌کنند. این امکان وجوددارد که برخی اثرات ضد توموری IFNها به طور مسقتیم در ارتباط با توانایی مهار تکثیر سلول تومور باشد و در نهایت این که IFN-γ به طور مستقیم یا غیرمستقیم موجب افزایش فعالیت سلول‌های TC، ماکروفاژها و سلول‌های NK می‌شود و از این طریق در ایجاد پاسخ ایمنی برعلیه سلول‌های توموری نقش ایفا می‌کند.

- فاکتورهای نکروز دهنده تومور

در برخی موارد، فاکتورهای نکروز دهنده تومور α و β فعالیت ضد توموری مستقیم نشان می‌دهند، به طوری که برخی از سلول‌های توموری را از بین برده و میزان تکثیر سلول‌های طبیعی را کاهش می‌دهند (شکل ۱۲-۲۱).

www.bbooks.ir



شکل ۱۲-۲۱: فوتومیکروگراف های ملانوسیت های طبیعی (بالا) و سلول های ملانومای سرطانی (پایین) در حضور (سمت چپ) و فقدان (سمت راست) TNF-α.

در حضور TNF-α و TNF-β، یک تومور دچار نکروز هموراژیک مشخص و پس رفت می‌شود. همچنین نشان داده شده است که TNF-α رگ‌زایی تومور را در اثر تخریب سلول‌های اپی‌تلیال عروق مجاور تومور، مهار می‌کند و از این طریق سبب کاهش جریان خون و اکسیژن رسانی می‌گردد که برای رشد تومور ضروری می‌باشند.

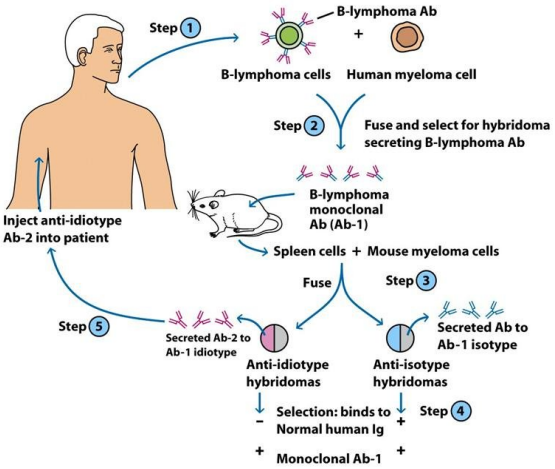
- آنتی‌بادی‌های منوکلونال در درمان برخی تومورها کارآمد می‌باشند

آنتی‌بادی‌های منوکلونال، مدت‌هاست که به روش‌های مختلف به عنوان عوامل ایمونوتراپی تجربی برای سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند. درحال حاضر حدود ۸ MAb مختلف برای درمان انواع مختلف سرطان مورد تأیید قرار گرفته‌اند.

جدول ۴-۲۱ آنتی‌بادی‌های منوکلونال تأیید شده توسط FDA و سرطان‌هایی که این آنتی‌بادی‌ها جهت درمان آنها به کار می‌روند نیز فهرست شده است. آنتی‌بادی‌های منوکلونال ممکن است به صورت دست‌نخورده به کار روند یا با ماده‌ای که کارآیی آن را افزایش دهد، کونژوگه شده باشد. توکسین‌ها، عوامل شیمیایی و ذرات رادیواکتیو جهت کونژوگه شدن با این آنتی‌بادی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. در اولین موفقیت‌ها در درمان

www.bbooks.ir

با آنتی‌بادی، لوی[1] و همکارانش به طور موفقیت آمیزی یک مرد ۶۴ ساله مبتلا به لنفوم سلولB را درمان کردند؛ در آن زمان، لنفوم به کبد، طحال، مغز استخوان و خون محیطی متاستاز داده بود. از آنجایی که این مورد، یک سرطان سلولB بود، آنتی‌بادی غشایی موجود بر روی تمام سلول‌های سرطانی از یک ایدیوتایپ مشابه تشکیل شده بودند. توسط روش‌های اصولی که درشکل ۱۳-۲۱ آمده است، این محققین آنتی‌بادی منوکلونال موشی ویژه ایدیوتایپ لنفوم B تولید کردند.



شکل ۱۳-۲۱: درمان لنفوم سلول B با آنتی بادی منوکلونال ویژه شاخص های ایدیوتایپ بر روی سلول های سرطانی . از آنجایی که تمام سلول های لنفوم از یک سلول B مشتق می شوند، تمامی آنها آنتی بادی غشایی (Ab-1) با یک نوع ایدیوتایپ عرضه می کنند. در این شکل آنتی بادی منوکلونال ضد ایدیوتایپ (Ab-2) علیه آنتی بادی غشایی لنفوم B تولید شده (مراحل ۱ تا ۴) و زمانی که به بیمار تزریق شوند (مرحله ۵) موجب حساسیت سلول های B به لیز با واسطه کمپلمان و آنتی بادی می گردند.

زمانی که این آنتی‌بادی منوکلونال به بیمار تزریق شد، با اتصال به سلول‌های لنفوم B و فعال کردن سیستم کمپلمان موجب لیز سلول‌های لنفوم B گردید. پس از ۴ تزریق، تومورها

1- R. Lovy

www.bbooks.ir

تحلیل رفته و بیمار طی یک دوره طولانی وارد فاز بهبودی گردید. اخیراً لوی و همکارانش از ایمونیزاسیون مستقیم برای تقویت سیستم ایمنی بیماران بهره گرفته‌اند. در یک کارآزمایی بالینی با حضور ۴۱ بیمار مبتلا به لنفوم سلول B ، ژن‌های بازآرایی شده ایمونوگلبولین لنفوم هر کدام از بیماران، جدا شده و جهت کد کردن ایمونوگلبولین‌های نوترکیب استفاده شدند. هریک از این Igها به هموسیانین یک نوع صدف[1] (KLH) اتصال یافتند. این پروتئین سبب فراخوانی مؤثر سلول‌های T_H می‌گردد.

این بیمارن با آنتی‌ژن‌های ویژه تومور بدست آمده از خودشان ایمن شدند و حدود ۵۰٪ این بیماران ، آنتی‌بادی ضد ایدیوتایپ سلول‌های توموری تولید کردند. عمدتاً نتایج بهبود بالینی در ۲۰ بیماری که پاسخ‌های ضدایدتوتایپ داشتند، مشاهده گردید و ۲ نفر از آنها بهبودی کامل یافتند.

روش متداول درمورد هدف قرار دادن ایدیوتایپ‌ها، مستلزم یک معرف اختصاصی برای هر کدام از بیماران مبتلا به لنفوم می‌باشد. این روش بسیار پرهزینه بوده و نمی‌توان از آن به عنوان یک روش درمان عمومی برای هزاران بیماری که هر ساله به لنفوم سلول B مبتلا می‌شوند، استفاده نمود. یک روش عمومی‌تر درمان لنفوم سلول B براساس این واقعیت صورت می‌گیرد که اغلب سلول‌های B حامل آنتی‌ژن‌های ویژه رده می‌باشند. برای مثال، آنتی‌بادی *Rituximab* که شاخص‌های CD20 سلولB را مورد هدف قرار می‌دهد، به طور گسترده برای درمان لنفوم غیرهوجکین استفاده می‌شود.

انواع تومورها به طور قابل توجه مقادیر بالایی از پذیرنده‌های فاکتور رشد را عرضه می‌کنند که اهداف امیدوار کننده‌ای برای آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد تومور می‌باشند. برای مثال، در ۳۰-۲۵٪ زنان مبتلا به سرطان پستان متاستاتیک، تغییر ژنتیکی سلول‌های توموری موجب افزایش بیان HER2 (یک شبه پذیرنده فاکتور رشد اپی درمی) می‌شود. یک

1- Keyhole Limpet hemocyanin

www.bbooks.ir

آنتی‌بادی منوکلونال ضد HER2 جهت درمان سرطان‌های پستان انسانی به میزان زیاد (۱۰۰ میلی‌گرم یا بیشتر) تجویز می‌شود.

همان‌طور که در بالا عنوان شد، آنتی‌بادی‌های منوکلونال خاصی که کاربرد بالینی دارند، با ایزوتایپ‌های رادیواکتیو، داروهای شیمی درمانی یا توکسین‌های قوی ترکیب می‌شوند. در این گونه درمان‌های هدایت شونده عوامل سمی به طور اختصاصی تنها به سلول‌های توموری عرضه می‌شوند. در مطالعات in vitro اثبات شده که این گلوله‌های جادویی می‌توانند بدون آسیب رساندن به سلول‌های طبیعی ، سلول‌های توموری را از بین ببرند. ایمونوتوکسین‌های[1] ویژه آنتی‌ژن‌های تومور در انواع سرطان‌ها مانند ملانوما، کارسینومای کولورکتال، کارسینومای متاستاتیک پستان، لنفوم و لوسمی‌های مختلف در فازهای I و II کارآزمایی‌های بالینی قرار دارند. در برخی از این آزمایش‌ها، شمار قابل توجهی از بیماران مبتلا به لوسمی و لنفوم، بهبودی کامل یا جزئی را نشان می‌دهند و آنتی‌بادی‌های کونژوگه جزو چندین محصول استفاده شده برای درمان لوسمی می‌باشند. با این وجود، پاسخ‌های بالینی در بیماران مبتلا به توده‌های توموری بزرگ، ناامید کننده می‌باشد. در برخی از این بیماران، صرفاً اندازه تومور موجب شده تا اغلب این سلول ها در دسترس ایمونوتوکسین‌ها قرار نگیرند.

- خلاصه

- سلول‌های توموری بدلیل تغییر در تنظیم رشد از سلول‌های طبیعی متمایز می‌باشند که این امکان را برای این سلول‌ها فراهم کرده تا به سهولت تکثیر یابند و سپس به بافت‌های زیرین حمله کرده و نهایتاً به دیگر بافت‌ها متاستاز دهند.
- سلول‌های طبیعی را می‌توان در in vitro با کارسینوژن‌های فیزیکی و شیمیایی و یا ویروس‌های ترانسفورم کننده، ترانسفورم نمود. این سلول‌ها خواص رشد تغییر یافته‌ای داشته و گاهی اوقات در صورت تزریق به حیوانات، قادر به ایجاد سرطان می‌باشند.

1- immunotoxins

www.bbooks.ir

- پروتوانکوژن‌ها، پروتئین‌هایی را کد می‌کنند که در کنترل طبیعی رشد سلول دخیل می‌باشند. تبدیل پروتوانکوژن‌ها به انکوژن‌ها، مرحلهٔ کلیدی و ایجاد اکثر سرطان‌های انسانی می‌باشد. این تبدیل ممکن است ناشی از جهش، جابجایی یا افزایش یک انکوژن باشد.
- سلول‌های توموری ، آنتی‌ژن‌های ویژه تومور و معمولاً آنتی‌ژن‌های همراه تومور را عرضه می‌کنند. در مقایسه با آنتی‌ژن‌های توموری که توسط مواد شیمیایی یا اشعهٔ ایجاد می‌شوند، آنتی‌ژن‌های توموری ویروسی با تمام آنتی‌ژن‌های تولید شده توسط همان ویروس یکسان می‌باشند.
- آنتی‌ژن‌های توموری توسط سلول‌های T متعلق به یکی از گروههای زیر شناسایی می‌شوند: آنتی‌ژن‌های کد شده توسط ژن‌های ویژه تومور، آنتی‌ژن‌های کد شده توسط انواع ژن‌های طبیعی که با جهش تغییر یافته‌اند، آنتی‌ژن‌های خاصی که به طور طبیعی تنها در مراحل خاصی از تمایز یا رده‌های تمایز یافته عرضه می‌شوند و آنتی‌ژن‌هایی که در برخی تومورها بیش از حد عرضه می‌شوند.
- پاسخ ایمنی به تومورها شامل لیز در حضور CTL، فعالیت سلول‌های NK، تخریب تومور در حضور ماکروفاژ و تخریب با واسطهٔ ADCC می‌باشد. چندین فاکتور سایتوتوکسیک شامل TNF-α و TNF-β به کشتن سلول‌های توموری کمک می‌کنند. تومورها مکانیسم های متعددی را جهت فرار از پاسخ ایمنی به کار می‌گیرند.
- ایمونوتراپی تجربی سرطان، انواعی از روش‌ها را شامل می‌شود که برخی از آنها سبب تقویت پیام کمک تحریکی مورد نیاز برای فعال شدن سلولTمی‌باشند. سلول‌های توموری مهندسی شده، سایتوکاین‌هایی را ترشح می‌کنند که قدرت پاسخ ایمنی و فعالیت سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن را افزایش می‌دهند.

www.bbooks.ir

- آنتی‌بادی‌های منوکلونال جهت استفاده علیه بسیاری از سرطان ها مورد تأیید قرار گرفته‌اند. این آنتی‌بادی‌ها به صورت دست نخورده و یا به همراه توکسین‌ها، عوامل شیمی درمانی یا عناصر رادیواکتیو مورد استفاه قرار می‌گیرند.
- عناصر کلیدی در طراحی استراتژی‌های واکسیناسیون علیه سرطان، شامل تشخیص آنتی‌ژن‌های توموری، ایجاد روشی جهت عرضه کارآمد و مؤثر آنتی‌ژن‌های توموری و تولید جمعیتی فعال از سلول‌های T_H یا Tc می‌باشد.

- سئوالات درسی

- سئوال تمرکز بالینی: چرا سرطان دهانه رحم، هدفی برای تولید واکسنی می‌باشد که می تواند از سرطان پیشگیری کند؟ آیا می‌توان این روش را برای تمام انواع سرطان به کار برد؟

۱- کدامیک از گزینه‌های زیر درست و کدامیک نادرست می‌باشد. در صورتی که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست است دلیل خود را بیان کنید.

الف) رتینوبلاستومای ارثی از عرضه بیش از حد یک انکوژن سلولی ناشی می‌شود.

ب) جابه جایی کروموزومی ژن c-myc در بسیاری از بیماران مبتلا به لنفوم بورکیت یافت می‌شود.

پ) گاهی چندین نسخه از انکوژن‌های سلولی در سلول‌های سرطانی مشاهده می‌شوند.

ت) الحاق ژنوم ویروسی به ژنوم سلول، می‌تواند یک پروتوانکوژن را به یک انکوژن ترانسفورم کننده تبدیل نماید.

ج) پاسخ ایمنی علیه تومور ویروسی، علیه سایر تومورهای ایجاد شده توسط همان ویروس، محافظت کننده می‌باشد.

۲- شما یک ایمونولوژیست بالینی می‌باشید که ALL را مطالعه می‌کنید.

www.bbooks.ir

سلول‌های لوسمی بیشتر بیماران مبتلا به ALL، مورفولوژی لنفوسیت را داشته ولی شاخص‌های سطحی سلول‌های B یا T را عرضه نمی‌کنند. شما سلول‌هایی را از بیمار جدا کرده‌اید که Ig غشایی نداشته ولی با آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد یکی از شاخص‌های سلول Pre-B طبیعی (B-200) واکنش می دهند. چگونه از آنالیز ژنتیکی جهت اثبات تعلق سلول‌های لوسمیک به ردهٔسلول‌های B استفاده می‌کنید.

۳- در آزمایش اخیر، سلول‌های ملانوما از بیماران مبتلا به مراحل اولیه یا پیشرفته ملانومای بدخیم جدا شدند. همزمان، سلول‌های T اختصاصی آنتی‌ژن توکسوئید کزاز، از هریک از بیماران جدا شده و کلون گردیدند.

الف) زمانی کـــه سلـــول‌های ملانوما در مراحل اولیه با آنتـــی‌ژن توکسوئید کزاز و کلون‌های سلول T ویژه توکسوئید کزاز و کلون‌های سلول T تکثیر می‌یابند، این تکثیر با اضافه کردن کلروکین یا آنتی‌بادی‌های منوکلونال ضد HLA-DR متوقف می‌شود. در حالی که اضافه کردن آنتی‌بادی منوکلونال ضد HLA-A ، B، DQ یا DP موجب توقف تکثیر نمی‌گردد. با استفاده از این یافته‌ها چگونه در این سیستم تجربی، سلول‌های ملانوما را در مراحل اولیه شناسایی می‌کنند؟

ب) زمانی که چنین آزمایشی در مرحلهٔ پیشرفته سلول‌های ملانوما تکرار شود، کلون های سلول T ویژه توکسوئید کزاز در پاسخ به آنتی‌ژن قادر به تکثیر نمی‌باشند. این روش چه چیزی را در مورد سلول های مرحله پیشرفته ملانوما آشکار می‌سازد؟

پ) زمانی که سلول‌های بدخیم ملانوما در مرحلهٔ اولیه و پیشرفته با پارافرمالدئید ثابت شوند و با توکسوئید پردازش شده کزاز انکوبه شوند، تنها سلول‌های ملانومای مرحله اولیه می‌توانند موجب تکثیر کلون‌های سلول‌های T ویژه توکسوئید کزاز شوند. این روش چه چیزی را در مورد سلول‌های مرحله اولیه ملانوما آشکار می‌سازد؟

۴- سه منبع محتمل آنتی‌ژن‌های توموری کدامند؟

www.bbooks.ir

۵- سایتوکاین‌های مختلف جهت استفاده در ایمونوتراپی تومور مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. چهار مکانیسمی که بوسیلهٔ آنها ، سایتوکاین ها اثرات ضد توموری خود را اعمال می‌کنند و سایتوکاین‌هایی که این اثرات را ایجاد می کنند را توضیح دهید.

۶- تزریق سلول‌های ملانومای آلوده به بیماران سرطانی،یک روش ایمونوتراپی امیدوار کننده می‌باشد.

الف) کدام دوژن برای این منظور به سلول‌های ملانوما تزریق می‌شوند؟

ب) چرا می‌توان از چنین سلول‌های ملانومایی در انواع دیگر سرطان‌ها نیز استفاده کرد؟

۷- برای هر یک از توضیحات زیر واژه مناسبی اختیار کنید.

واژه‌ها

سارکوم	کارسینوما	متاستاز
نئوپلاسم	بدخیم	لوسمی
ترانسفورماسیون	لنفوم	خوش خیم

توضیحات:

الف) یک تومور خوش خیم یا بدخیم

ب) توموری که از بافت اندودرم نشأت می‌گیرد.

پ) توموری که از بافت همبند مزودرم نشأت می‌گیرد.

ت) توموری که تهاجمی بوده و رشد مداوم دارد.

ث) سلول‌های توموری که منشأ توموری متفاوتی داشته و در بخش‌های مختلف بدن رشد می‌کنند.

ج) توموری که غیر تهاجمی می‌باشد.

چ) توموری که از سلول های لنفوئید نشأت می‌گیرد.

ح) تغییر دائمی در ژنوم سلولی که منجر به رشد غیر طبیعی می‌گردد.

www.bbooks.ir

خ) سلول‌های سرطانی با منشأ سلول‌های خونساز که به صورت یک تومـور تـوپر رشـد نمی‌کنند.

www.bbooks.ir

پاسخ سئوالات درسی

فصل اول

۱-روش جنر در استفاده از عفونت آبله گاوی جهت اعطای ایمنی نسبت به آبله انسانی به دلیل کاهش خطرات جدی نسبت به روش های قبلی، برتری دارد. قبل از آن، از پوسته های زخم قربانیان آبله استفاده می شدکه علیرغم اعطای ایمنی خطرات بالقوه ایجاد بیماری کشنده را نیز به همراه داشت.

۲-روش پاستور در درمان هاری شامل یک سری از تلقیحات با ویروس ضعیف شده هاری بود. این روند به صورت فعال، گیرنده را ایمن می کند. یک روش ساده جهت آزمودن ایمنی فعال، جستجوی آنتی بادی های ضدهاری در خون فرد گیرنده با فاصله زمانی پس از اتمام درمان می باشد. به طوری که تمام آنتی بادی هایی که در نتیجه درمان غیرفعال کسب شده اند از خون پاکسازی می شوند ولی آنتی بادی های القا شده از اثر ایمونوتراپی فعال در سرم حاضرند.

۳- مادرهای ایمن شده می توانند ایمنی را به واسطه عبور دادن آنتی بادی های ضد استرپتوکوکی از خلال سد جفتی به نوزادان خود اعطا کنند.

۴-الف)CM، ب)H و CM، پ)H و CM، ت)H و CM، ث)CM، ج)CM، چ)H، ح)CM، خ)H، د)H، ذ)CM

۵-ویژگی، تنوع، خاطره و تمایز بین خودی و غیرخودی چهار خصوصیت ایمنی اکتسابی می باشند. ویژگی به توانایی مولکول های سطحی خاصی بر روی لنفوسیت ها اشاره داشته که تنها یک نوع آنتی ژن منفرد را شناسایی می کند. بازآرایی ژن های ایمونوگلبولین طی بلوغ لنفوسیت ها به ویژگی آنتی ژنی منجر می گردد و همچنین ویژگی های متعدد فراوانی را طی بلوغ لنفوسیت ها ایجاد می کند(تنوع). توانایی سیستم ایمنی در پاسخ به مولکول های غیر خودی در نتیجه حذف لنفوسیت هایی که آنتی ژن های خودی را شناسایی می کنند حاصل می گردد. پس از مواجهه با یک

www.bbooks.ir

آنتی ژن خاص، لنفوسیت های بالغ واکنش دهنده به آن آنتی ژن تکثیر می یابند. این جمعیت گسترش یافته می توانند با سرعت و شدت بیشتری در برخوردهـای بعـدی به آنتی ژن واکنش بدهند که به این خاصیت خاطره ایمنی می گویند.

۶-پاسخ ایمنی ثانویه شامل جمعیت تکثیر یافته سلول هـای خـاطره ای بـوده و سـطوح بالاتر و سریع تر پاسخ را شامل می شود.

۷- الف) هم آنتی بادی و هم TCR برای آنتی ژن ویژگی دارند در صورتی که MHC فاقد چنین خاصیتی می باشد.

ب) آنتی بادی تنهال توسط رده سلولی B بیان می شود؛ TCR توسط رده سلولی T و MHC تقریباً توسط تمام سلول هـای هسـته دار عرضـه مـی گـردد؛ مولکـول هـای MHC-II تنها توسط سلول های تخصص یافته به نام APC ها بیان می شوند.

پ) آنتی بادی ها می توانند به آنتی ژن های پروتئینی یا پلی ساکاریدی متصل شوند؛ TCR ها تنها پپتیدهای همراه با مولکول MHC را شناسـایی کـرده و مولکـول هـای MHC تنها به پپتیدهای پردازش شده متصل می شوند.

۸- الف) ماکروفاژها، سلول های B، سلول های دندریتیک

ب) کمک تحریکی، سلول های T_H

پ) I ،II

ت) لکوسیت

ث) ایمنی اکتسابی

ج) CD4 ،CD8

چ) اپی توپ

۹-آنها می توانند آنتی ژن های همراه با مولکول های MHC را شناسایی کنند.

۱۰-ایمنی ذاتی و اکتسابی جهت شکل گیری یک پاسخ کامـل و حفاظـت کننـده علیـه پاتوژن ها با یکدیگر همکاری می کنند. یک مثال سلول فاگوسیت بوده که مواد بیگانه

www.bbooks.ir

را برداشت کرده و آن را جهت تولید آنتی ژن های پپتیدی پردازش می کند. آنتی ژن های پردازش شده سلول های T را تحریک می کنند که یا در جهت کمک به سلول های B و تولید آنتی بادی فعالیت کرده و یا سلول های T سایتوتوکسیک را در برابر سلول های عفونی یا سرطانی تحریک می کنند.

۱۱-عواقب اشکال خفیف نقص ایمنی شامل عطسه، کهیر و راش های پوستی ایجاد شده در اثر آلرژی ها می باشد. آسم و واکنش های آنافیلاکسی نتایج شدیدتر آلرژی بوده و می توانند منجر به مرگ شوند. پیامدهای نقص ایمنی شدید شامل افزایش استعداد ابتلا به عفونت با طیف وسیعی از پاتوژن ها یا بیماری های ناتوان کننده مزمن مثل آرتریت روماتوئید می باشد. شایع ترین علت نقص ایمنی عفونت با رتروویروس HIV-1 بوده که به ایدز منجر می شود.

۱۲-الف (نادرست)، ب (نادرست)، پ (نادرست)، ت (درست)

۱۳-الف(درست)، ب(درست)، پ(درست)، ت(درست)، ث(نادرست: آنتی ژن می بایست همراه با مولکول های MHC به سلول های T عرضه شوند.)، ج(نادرست: پپتیدها در داخل وزیکول ها به شیار متصل شونده به پپتید MHC-I اضافه می شوند.)

۱۴-الف (۲)، ب (۳)، پ (۴)، ت (۱)

فصل دوم

۱- الف) در حالت کلی سلول های $CD4^+$ T مولکول های MHC-II را شناسایی کرده و به عنوان سلول های T_H عمل می کنند، در حالی که برخی از سلول های T_H، CD8 را بیان کرده و منحصر به MHC-I می باشند.

ب) مغز استخوان دارای تعداد اندکی سلول های بنیادی چند توانه بوده که ۰/۰۵٪ کل سلول های مغز استخوان را شامل می شوند.

پ) فعال شدن ماکروفاژها منجر به افزایش بیان مولکول های MHC-II می گردد.

www.bbooks.ir

ت) فولیکول های لنفاوی در لوزه ها، پلاک های پیر و سایر بافت های لنفاوی همراه مخاط نیز یافت می شوند. ث) در پاسخ به عفونت ها سلول های T_H و ماکروفاژها فعال شده، سایتوکاین های متنوعی را ترشح می کنند که موجب افزایش خونسازی می‌شوند.

ج) بر خلاف سایر انواع سلول های دندریتیک، سلول های دندریتیک فولیکولی مولکول‌های MHC-II را بیان نکرده و به عنوان APC عمل نمی کنند. این سلول ها که تنها در فولیکول های لنفاوی حضور دارند می توانند مجموعه های آنتی ژن- آنتی بادی در گردش را به دام انداخته و به نظر می رسد که این عمل می تواند فعال کردن سلول B و شکل گیری سلول های B خاطره ای را تسهیل کند.

چ) سلول های B و T دارای پذیرنده های متصل شونده به آنتی ژن بوده در حالی که جمعیت کوچکی از سلول های لنفاوی به نام سلول های null فاقد این پذیرنده ها می‌باشند.

ح) در حالی که تعداد زیادی از حیوانات مانند موش و انسان، سلول های B را در مغز استخوان تولید می کنند، برخی از نشخوارکنندگان این چنین نمی باشند.

خ) تا کنون، نشان دادن حضور سلول های B یا T در ماهی های بدون آرواره مثل لامپری امکان پذیر نبوده است.

۲- الف) پیش ساز میلوئید ب) پیش ساز گرانولوسیت – منوسیت پ) سلول بنیادی خونساز ت) پیش ساز لنفوئید

۳- اعضای لنفاوی اولیه، مغز استخوان (بورسا فابریسیوس در پرندگان) و تیموس می‌باشند که به ترتیب به عنوان جایگاه های بلوغ سلول های B و T عمل می کنند.

۴- اعضای لنفاوی ثانویه، طحال، غدد لنفاوی و بافت های لنفاوی همراه مخاط در محل‌های مختلف می باشند. MALT شامل لوزه ها، پلاک های پیر و آپاندیس

www.bbooks.ir

می‌باشد. تمامی این اعضا آنتی ژن را به دام انداخته و جایگاه هایی را جهت میانکنش لنفوسیت ها و آنتی ژن فراهم می آورند.

۵- سلول های بنیادی قادر به خود تجدید شوندگی و همچنین تمایز به بیش از یک نوع سلول می باشند، در حالی که سلول های پیش ساز قدرت خود تجدید شوندگی خود را از دست داده و تنها به یک رده سلولی خاص متعهد می باشند.

۶- دو نقش اولیه تیموس، تولید و انتخاب گنجینه سلول های T جهت محافظت بدن از عفونت ها می باشد.

۷- موش های nude و مبتلایان به سندرم دی جرج دارای یک نقص مادرزادی هستند که از تکامل تیموس جلوگیری می کند. هر دو فاقد سلول های T در گردش بوده و قادر به ایجاد پاسخ های ایمنی با واسطه سلول نمی باشند.

۸- در انسان، تیموس تا سن بلوغ به حداکثر اندازه خود می رسد و در طی سال های بلوغ به تدریج آتروفی می شود.

۹- موش های پرتو دیده شده به عنوان وسیله ای جهت بررسی سیستم سلول های بنیادی چندتوانه کاربرد دارند، به طوری که موش هایی که این سلول ها به آنها تزریق می شود قادر به بازسازی سیستم خونسازی خود بوده و زنده می مانند.

۱۰- منوسیت ها پیش سازهای خونی ماکروفاژها هستند. منوسیت ها دارای هسته لوبیایی شکل بوده و در مقایسه با ماکروفاژها خاصیت بیگانه خواری و میکرب کشی محدودتری دارند. ماکروفاژها بزرگتر از منوسیت ها بوده و بیگانه خواری، مکانیسم‌های ضدمیکربی، ترشح سایتوکاین و تنظیم کنندگی سیستم ایمنی آنها ارتقا یافته است.

۱۱- کیسه بورسا در پرندگان جایگاه اولیه تکامل سلول های B بوده و خارج کردن آن منجر به فقدان سلول های B در گردش و ایمنی هومورال می گردد.

www.bbooks.ir

۱۲-پس از فاگوسیتوز توسط ماکروفاژها اکثر باکتری ها و قارچ ها تخریب شده و به شکل پپتیدهای آنتی ژنی همراه با MHC-II در سطح سلول عرضه می شوند که به القای فعالیت سلول های T_H و سپس پاسخ هومورال می انجامد. در طرف دیگر باکتری های داخل سلولی و قارچ ها مکانیسم های متنوعی را به کار می گیرند تا در داخل ماکروفاژها زنده بمانند، درنتیجه پاسخ آنتی بادی را القا نمی کنند.

۱۳-الف) درست. ب) نادرست. ناحیه حاشیه ای غنی از سلول های B و PALS غنی از سلول های T می باشد. پ) درست. ت)درست. ث) نادرست. علاوه بر نقش مرکزی در شکل گیری سلول های NK، Ikaros در تولید سلول های B و T نیز دخالت دارد، در نتیجه تخریب آن موجب عدم شکل گیری غدد لنفاوی نیز می شود.

۱۴-الف)۵ ب)۱۰ پ)۳ ت)هیچکدام ث)۴ ج)۷ ح)۱۲ خ)۶ د)۸ ذ)۱۶ ر)۱۵ ز)۲ ژ)۶ س)۵ ش)۱۴

فصل سوم

۱-سلول های ایمنی ذاتی تعدادی از سایتوکاین ها و کموکاین ها را بیان کرده که موجب به خدمت گیری سلول های ایمنی اکتسابی در جایگاه عفونت می شوند. پل ارتباطی کلیدی بین ایمنی ذاتی و اکتسابی، سلول دندریتیک بوده که می تواند آنتی ژن را از یک ماده خارجی دریافت کرده و به بافت لنفاوی باز گشته و آن را به سلول های B وT عرضه کند. سیستن کمپلمان در هر دو نوع ایمنی ذاتی و اکتسابی نقش بازی می‌کند و می تواند توسط تعدادی از محصولات میکربی از طریق پذیرنده های محلول و سطحی و یا پاسخ های اختصاصی آنتی بادی فعال شود.

۲-التهاب با قرمزی، گرما، تورم، درد و گاهی اوقات از دست رفتن عملکرد طبیعی عضو همراه می باشد. اعمال لکوسیت های موضعی موجب علائم التهاب می گردد؛ بیان سایتوکاین ها می تواند موجب افزایش درجه حرارت و تورم (به دلیل افزایش نفوذپذیری عروق) گردد. افزایش نفوذپذیری عروق، ورود سلول ها را به جایگاه

www.bbooks.ir

التهاب تسهیل می کند. پاسخ ایمنی ذاتی شامل به خدمت گیری فاگوسیت ها، مولکول های اختصاصی محلول که مهاجم را خنثی کرده یا آن را می کشند و همچنین راه اندازی پاسخ های ایمنی اکتسابی در صورت زنده ماندن مهاجم می باشد.

۳-الف) اینترفرون، NK.

ب)iNOS، آرژینین،NADPH ، NO.

پ) NADPH فاگوزوم اکسیداز، O_2، ROS، NO، RNS.

ت) سلول دندریتیک، کلاس یک، مولکول های MHC-II، T_H، T_C، سلول های دندریتیک.

ث) CRP، MBL.

ج) APR، CRP، MBL.

چ) TLR7، TLR8، TLR9.

ح) PRRها، TCR، آنتی بادی.

خ) PRRها، MHC-I، MHC-II.

د) TLR2، PRR.

ذ)PRRها، PAMPها.

ر) TLR4، TLR2. ز)کمپلمان

۴-Beutler نشان داد که موش های lpr به اندوتوکسین مقاوم بوده و تفاوت ژنتیکی این موش ها فقدان یک TLR4 عملکردی به دلیل یک جهش نقطه ای در توالی پذیرنده می باشد. R.Medzhitov و C.Janeway نشان دادند که یک پروتئین (TLR4) که با Toll همسانی دارد موجب فعال شدن بیان ژن های پاسخ ایمنی هنگامی که در رده سلولی انسانی بیان شوند، می گردند.

۵-از معایب سیستم ایمنی اکتسابی، امکان ایجاد پاسخ های خودایمنی می باشد. به نظر می رسد که معایب این سیستم با مزایای تلفیق هر دو سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی

www.bbooks.ir

برطرف شده باشد. برای مثال ایمنی ذاتی فاقد خاطره بوده و نمی تواند به پاتوژن‌های جدید که فاقد خاصیت شناسایی شدن توسط PRRها می باشند، پاسخ دهد. زمان پاسخ دهی ایمنی اکتسابی کند بوده و بر مبنای نقش مکملی مزایا و معایب این دو سیستم، همراهی هردوی آنها ضروری می باشد.

۶-با استفاده از پروتئین های ضد قارچی مثل دروسومایسین. انسان همچنین دارای تعدادی پروتئین ضدمیکربی بوده که می توانند خصوصیات مولکولی گروهی از پاتوژن‌ها را شناسایی کرده و آنها را تخریب کنند.

۷-a: مسدود کردن میانکنش های اینتگرین-ICAM ، ایمنی اکتسابی را با مهار خروج از رگ سلول های T و ماکروفاژها و مداخله در میانکنش سلول های T و دندریتیک مهار می کند. مهار ماکروفاژها در جایگاه التهاب، فعال شدن و ترشح کردن سایتوکاین ها و کموکاین ها از آنها را که موجب پشتیبانی ایمنی اکتسابی می شوند، مختل می کند. خروج لکوسیت ها از رگ به دلیل وابسته بودن آن به میانکنش اینتگرین-ICAM نیز مهار می شود. اثری بر روی پاسخ فاز حاد دیده نمی شود و همچنین هیچ اثری بر روی لیز با واسطه کمپلمان به چشم نمی خورد، زیرا اجزای کمپلمان، هومورال بوده و سلولی نیستند. التهاب سرکوب می شود زیرا مهاجرت سلول ها به جایگاه های التهاب یکی از اجزای پاسخ التهابی می باشد و در نهایت مسیرهای داخل سلولی تولید ROS و RNS تحت تأثیر میانکنش های اینتگرین-ICAM قرار نمی گیرد. b: TLR4 مسئول شناسایی LPS توسط سیستم ایمنی ذاتی می باشد. در مورد عفونت ها یا ایمونیزاسیون هایی که LPS در آنها دخالت ندارد، هیچ کدام از روندهای ذکر شده تحت تأثیر قرار نمی گیرند. هرچند که در مورد عفونت با باکتری های گرم منفی یا برخورد با LPS به هر نحوی، القای ایمنی اکتسابی، التهاب، RNS و ROS مهار می شود. c: طی پاسخ های ایمنی ذاتی TNF-α و IL-1 تولید شده توسط ماکروفاژها و سایر انواع سلولی، موجب التهاب گشته و

www.bbooks.ir

پاسخ های ایمنی اکتسابی را تحت تأثیر قرار می دهند. نقص در تولید این سایتوکاین‌های التهابی موجب کاهش ایمنی اکتسابی و التهاب می گردد. این سایتوکاین ها مستقیماً خروج لکوسیت ها از رگ، پاسخ فاز حاد یا لیز با واسطه کمپلمان را تحت تأثیر قرار نمی دهند. d: جهش های سیستم آنزیمی phox می تواند تولید ROS و RNS را مهار کند. e: تخریب ژن های MHC-II مستقیماً ایمنی اکتسابی را مهار می کند، زیرا آنها جهت فعال شدن سلول های T_H توسط APCها مورد نیاز می باشند. اثر مستقیمی بر روی خروج از رگ، پاسخ فاز حاد، لیز با واسطه کمپلمان یا تحریک ROS و RNS دیده نمی شود.

فصل چهارم

۱-الف) درست. ب) درست. پ) نادرست، یک هاپتن قادر به تحریک پاسخ ایمنی نبوده مگر آن که با یک پروتئین حامل کونژوگه شود، هرچند که هاپتن می تواند با یک آنتی بادی اختصاصی از پیش ساخته شده اتصال برقرار کند. ت) درست. ث) نادرست، یک سلول T تنها قادر به شناسایی پپتیدهایی می باشدکه پردازش شده و همراه با MHC عرضه شده باشند. این پپتیدها می توانند پپتیدهای داخلی یک مولکول نیز باشند. ج) درست. چ) نادرست، ایمونوژن ها قادر به تحریک یک پاسخ ایمنی اختصاصی می باشند. آنتی ژن ها قادر به ترکیب اختصاصی با آنتی بادی یا TCR القا شده طی یک پاسخ ایمنی هستند. هرچند که تمام ایمونوژن ها خاصیت آنتی ژنیسیته دارند، ولی برخی از آنتی ژن ها فاقد خاصیت ایمنی زایی هستند. ح) درست. خ) نادرست، اپی توپ های سلول B یک پروتئین، تنها از ساختار اول پروتئین ها مشتق نشده بلکه ممکن است از ساختمان دوم، سوم و یا حتی چهارم منشأ گرفته باشند.

www.bbooks.ir

۲- الف) BSA دست نخورده: دناتوراسیون توسط حرارت احتمالاً اپی توپ های سلول B را در یک پروتئین کروی تخریب کرده هرچند که اپی توپ های سلول T تقریباً در برابر حرارت پایدارند.

ب) HEL: ایمنی زایی یک آنتی ژن عموماً با بیگانگی آن مرتبط می باشد، هرچند که کلاژن و برخی پروتئین های دیگر که در طول تکامل حفظ شده اند، بین گونه های مختلف بیگانگی کمی داشته و آنتی ژن های ضعیفی هستند. پ) پروتئین با وزن ۱۵۰۰۰۰ دالتون: در صورت برابر بودن سایر موارد، پروتئین های بزرگتر ایمنی زاتر از انواع کوچکتر می باشند.

ت) BSA همراه با ادجوانت کامل فروند ایمنی زاتر است زیرا مایکوباکتریوم موجود در ادجوانت فروند اجزایی دارد که طیف وسیعی از سلول ها را در پاسخ به BSA تحریک می کنند.

۳-ب، ت

۴-الف)T ب)T پ)B ت)B ث)T ج)T چ)BT ح)B خ)BT

۵-الف) درست. ب) درست. پ) نادرست، چندین ایزوتایپ قادرند بر سطح یک سلول B بارز شوند. یک سلول B بالغ، IgM و IgD را بر سطح خود بیان می کند. ت) درست. ث) درست. ج) درست. چ) نادرست، IgM ترشحی در سرم، پنتامر می‌باشد و به دلیل اندازه بزرگتر و ظرفیت بالاتر، در برقراری اتصال متقاطع آنتی ژن‌های سطحی باکتریایی کارآمد تر از IgG عمل می کند. ح) درست. خ) درست. د)نادرست، هر دو ناحیه متغیر زنجیره سبک و سنگین تقریباً حاوی ۱۱۰ اسیدآمینه می باشند.

۶-الف) مولکول باید دارای خصوصیات ساختمانی زیر باشد: ۲ زنجیره سبک یکسان و ۲ زنجیره سنگین یکسان (H2L2)؛ پیوندهای دی سولفید بین زنجیره سنگین (H-H) و سبک-سنگین (H-L)؛ یک سری از دومن های داخل زنجیره ای که تقریباً حاوی

www.bbooks.ir

۱۱۰ اسید آمینه بوده و توسط پل های دی سولفید داخل زنجیره ای، حلقه هـای ۶۰ اسیدآمینه ای را ایجاد می کنند؛ یک دومن ثابت در زنجیـره هـای سـبک و ۳ یـا ۴ دومن ثابت در زنجیره های سنگین. انتهای آمینـی هـر دو زنجیـره سـبک و سـنگین می‌بایست توالی متغیری داشته باشند.

ب) هر دو آنتی سرم ضد زنجیره κ و γ می بایست با ایزوتایپ جدید واکـنش بدهنـد زیرا هر دوی این آنتی سـرم هـا دارای آنتـی بـادی اختصاصـی علیـه زنجیـره سـبک می‌باشند. انتظار می رود که ایزوتایپ جدید یا حاوی زنجیره سبک κ و یا زنجیره سبک λ باشد.

پ) احیای پیوندهای دی سولفید داخل زنجیره ای ایزوتایپ جدید توسط مرکاپتواتـانول و آلکیلاسیون، جداسازی زنجیره های سبک و سـنگین، ایمـن سـازی خرگـوش توسـط زنجیره سنگین و پس از جذب توسط تمام ایزوتایپ های شناخته شده ی انسانی، آنتـی سرم خرگوش می بایست با ایزوتایپ جدید واکنش دهد.

۷-IgM و IgD در دومن های ناحیه ثابت خود با یکدیگر تفـاوت دارنـد، در حـالی کـه ویژگی آنتی ژنی توسط دومن های ناحیه متغیر تعیین می گردد. مولکول های IgM و IgD که دارای نواحی ثابت متفاوت ولی نواحی متغیر یکسان می باشند، بر روی یـک سلول B مشخص یافت می شوند، بنابراین با وجودی کـه سـلول دارای دو ایزوتایـپ می باشد، ولی تک ویژگی خواهد بود.

۸-مزایای IgG نسبت به IgM شامل: ۱) قابلیت عبور از جفت و محافظت از جنـین ۲) غلظت سرمی بالای آن که منجر به اتصال و خنثی کـردن آنتـی ژن هـای بیشـتری توسط آن می شود. ۳) اندازه کوچکتر که IgG را قادر ساخته که آسان تر در مایعات سلولی منتشر گردد. معایب IgG در مقایسه با IgM شامل: ظرفیت کمتـر آن در ۱) آگلوتیناسیون آنتی ژن ها و ۲) فعال سازی کمپلمان بوده که هر دو به دلیل ظرفیـت کمتر آن می باشند.

www.bbooks.ir

۹-الف) شکل ۶-۴ و ۷-۴. ب) شکل ۱۹-۴ پ) شکل ۱۷-۴

-۱۰

Property	Whole IgG	H chain	L chain	Fab	$F(ab')_2$	Fc
Binds Ag	+	+/-	+/-	+	+	-
Bivalent Ag binding	+	-	-	-	+	-
Binds to Fc receptor	+	-	-	-	-	+
Fixes complement	+	-	-	-	-	-
Has V domains	+	+	+	+	+	-
Has C domains	+	+	+	+	+	+

۱۱- الف) AL ب) ID پ) IS ت) AL ث) هیچ آنتی بادی شکل نمی گیرد.

-۱۲

	Rabbit antisera to mouse Ab component				
	γ chain	κ chain	IgG Fab fragment	IgG Fc fragment	J chain
Mouse γ chain	Yes	No	Yes	Yes	No
Mouse κ chain	No	Yes	Yes	No	No
Mouse IgM whole	No	Yes	Yes	No	Yes
Mouse IgM/Fc fragment	Yes	No	No	Yes	No

۱۳-دومن های تاخورده ایمونوگلبولین تقریباً حاوی ۱۱۰ اسیدآمینه بوده که هر کدام به صورت دو صفحه β موازی ناهمسو سازماندهی شده اند و هر کدام از چندین رشته β که توسط حلقه های کوتاه با طول های مختلف از هم جداشده اند، تشکیل شده اند. هر دومن تا خورده ایمونوگلبولین به واسطه پیوندهای دی سولفید داخل زنجیره ای

www.bbooks.ir

بین اسیدآمینه های سیستئین حفاظت شده که حدود ۶۰ واحد با هم فاصله دارند، پایدار می شود.

۱۴-نواحی فوق العاده متغیر که CDR نیز خوانده می شوند در حلقه های تاخوردگی ایمونوگلبولین قرار گرفته و در تشکیل نواحی V_H و V_L دخالت دارند. در هر کدام از دومن های V_H و V_L سه ناحیه CDR وجود دارد. اسیدآمینه های CDRها اکثراً در اتصال به آنتی ژن شرکت دارند.

۱۵-کمترین مقدار تغییرپذیری هنگامی حاصل می شود که یک اسیدآمینه مشخص همیشه در یک جایگاه حاضر باشد که در این حالت مقدار تغییرپذیری برابر با ۱ خواهد بود. بیشترین مقدار تغییرپذیری هنگامی حاصل می شودکه هر کدام از ۲۰ اسیدآمینه ممکن بتوانند با فراوانی برابر در یک جایگاه حاضر شوند که تغییرپذیری در این حالت 20/0.05=400 خواهد بود.

۱۶-آنتی سرم همچنین می تواند حاوی آنتی بادی هایی علیه زنجیره های سبک κ و λ باشد که در تمام ایزوتایپ ها وجود دارند.

۱۷- الف) چهار جایگاه اتصال به آنتی ژن متفاوت و ۱۰ مولکول آنتی بادی متفاوت:

HsLs/HsLs, HmLm/HmLm, HsLm/HsLm, HmLs/HmLs, HsLs/HmLm, HsLs/HsLm, HsLs/HmLs, HmLm/HsLm, HmLm/HmLs, HsLm/HmLs

ب) دو جایگاه اتصال به آنتی ژن مختلف و سه مولکول آنتی بادی متفاوت:

HsLs/HmLs, HsLs/HsLs, HmLs/HmLs

پ) یک جایگاه اتصال و یک مولکول آنتی بادی: HsLs/HsLs

۱۸-الف)۳، ۶، ۱۰، ۱۱

ب) ۴

پ)۲، ۹، ۱۲

ت) ۵

www.bbooks.ir

ث) ۱، ۳، ۴، ۷، ۸ و ۱۱

۱۹-به احتمال زیاد آنتی بادی در پذیرنده های سطح سلول اتصال متقاطع ایجاد کرده که منجر به مرحله اولیه فعال شدن پذیرنده می گردد. درنتیجه فعالیت لیگاند را تقلید می کند. انکوباسیون محلول آنتی بادی منوکلونال با آنزیم پاپایین، آنتی بادی را به صورتی می شکند که قطعات Fab یک ظرفیتی حاصل شود. این قطعات خاصیت اتصال به پذیرنده را حفظ می کنند ولی قادر به ایجاد اتصال متقاطع آنها نمی باشند.

۲۰- در صورت تغذیه نوزاد از شیر مادر، بسیاری از اجزای ایمونولوژیک به نوزاد منتقل می شوند. IgA ترشحی اولین آنتی بادی وارد شده به شیر می باشد. سایر ترکیبات مثل هورمون ها، سایتوکاین ها و آنزیم ها به نوزاد در حال رشد کمک می کنند تا رشد میکربی را مهار کند.

فصل پنجم

۱-الف) نادرست، قطعات ژنی V_κ و C_λ بر روی کروموزوم های متفاوتی واقع شده اند و نمی توانند طی بازآرایی ژنی کنار یکدیگر قرار بگیرند. ب) درست. پ) درست. ت) درست. ث) درست. ج) درست.

۲-قطعات ژنی V_H و J_H نمی توانند به هم وصل شوند زیرا هر دو با RSSها احاطه شده‌اند. بنابر قانون اتصال یک پیچ/دو پیچ، توال های پیام دارای فاصله گذار دوپیچ تنها می توانند به توالی های پیام دارای فاصله گذار یک پیچ متصل شوند.

۳-زنجیره های سبک: $۱۰^۳$ ۶ زنجیره های سنگین: $۱۰^۴$ ۵/۴ مولکول های آنتی بادی: $۱۰^۹$ ۱/۰۸

۴-الف)۱،۲،۳ ب)۳ پ)۳ ت)۵ ث)۲،۳،۴ ج)۲ چ)۵

۵-جهش سوماتیک در تنوع هر سه ناحیه ی CDR شرکت دارد. تنوع بیشتر CDR3 در هر دو زنجیره ی سبک و سنگین با انعطاف پذیری اتصالی حاصل می گردد.

۶-الف)R ب)G پ)NP ت)NP ث)R ج)G

www.bbooks.ir

۷-DNA زنجیره κ می بایست دارای شکل رده ی زایا باشد زیـرا بـازآرایی منجـر بـه محصول زنجیره ی سنگین می بایست قبل از شـروع بـازآرایی زنجیـره ی سـبک κ صورت بگیرد.

۸-الف)خیر ب)بله پ)خیر ت)خیر ث)بله

۹-افزودن تصادفی نوکلئوتیدهای N در اتصالات D-J و V-DJ منجر به تنوع ناحیـه ی CDR3 زنجیره ی سنگین می شود ولی می تواند به بازآرایی فاقد محصول نیز منجـر شود.

۱۰-اتصال بین قطعات ژنی ناحیه ی متغیر، در منطقه CDR3 رخ می دهد. طـی شـکل گیری این اتصالات، انعطاف پذیری اتصالی، افزودن نوکلئوتیـدهای P و N منجـر بـه تنوع می گردد. به دلیل این که این فرآیندها بقیه ناحیه متغیر را تحـت تـأثیر قـرار نمی دهند، CDR3 بیشترین تنوع را دارد.

۱۱-چهار شانس

۱۲-الف)۵ ب)۵،۶،۹ پ)۱ ت)۴ ث)۲،۸ ج)۲،۱۱ چ)۳،۷ ح)۳،۱۰

۱۳-به دلیل این که آنتی بادی های موشی به سرعت در انسـان پاکسـازی مـی شـوند، آنتی بادی های درمانی ضد ایدیوتایپ مشتق شده از موش در صورت انسانی شـدن تأثیر بیشتری دارند.

۱۴-الف)RNA ب)RNA پ)DNA ت)DNA ث)DNA

۱۵-ویژگی آنتی بادی از والدین به ارث نمی رسد و در سطح DNA توسط بازآرایی‌های تصادفی ژن های متصل شونده به آنتی ژن تعیین می گردد. بنابراین ممکن است کـه قابلیت تولید IgE از یکی از والدین به ارث برسد، ولی خصوصیت IgE در هر فرد به صورت متفاوتی تعیین می گردد.

www.bbooks.ir

فصل ششم

۱-الف) درست. ب) درست. پ) نادرست، هضم با پاپایین منجر بـه شـکل گیـری قطعات Fab یک ظرفیتی شده که قـادر بـه اتصـال متقـاطع آنتـی ژن نمـی باشـند. ت)درست. ث) درست. ج) درست. چ) درست.

۲-سرم گاوی کامل

۳-بطری A: C1-H1 بطری B: C2-H2 بطری C: C1-H2 بطری D: C2-H1

۴-الف، پ و خ

۵-الف) جداسازی زنجیره سنگین از بیمار مبتلا به میلوما با ایزوتایپ مشـخص، تزریـق زنجیره ی سنگین به خرگوش جهت به دست آوردن آنتی سرم علیه هر ایزوتایـپ و تعیین این که کدامیک از آنتی سرم ها با پروتئین میلومای x واکـنش مـی دهـد (بـا استفاده از روش الایزا).

ب) استفاده از آنتی بادی ضد پروتئین میلوما به عنـوان پایـه جهـت طراحـی آزمـون الایزای کمی که می تواند سطح پروتئین میلوما را در سرم مشخص کند.

۶-الـف) الایـزا ب)الایـزا یـا RIA پ) الایـزا ت) ایمونوفلورسـانس ث)آگلوتیناسیون ج)الایزا چ) الایزا ح)آگلوتیناسیون

۷-ب

۸-میل پیوندی به قدرت میانکنش بین یک جایگاه اتصال به آنتی ژن در یک آنتی بادی و لیگاند مرتبط با آن اشاره دارد. میل پیوندی تام بـه مجمـوع قـدرت اتصـال مـؤثر تمامی جایگاه های اتصال آنتی بادی و چندین اپی توپ یکسان در یک آنتی ژن اتلاق می شود.

۹-الف) آنتی سرم #۱ $K_0=1.2\times10^5$، آنتی سرم#۲ $K_0=4.5\times10^6$ ، آنتی سرم#۳ $K_0=4.5\times10^6$

www.bbooks.ir

ب) هر کدام از آنتی بادی ها دو ظرفیتی هستند.

پ) آنتی سرم#۲

ت)آنتی سرم منوکلونال ۲ زیرا تنها یک اپی توپ از هورمون را شناسایی می کند.

۱۰- لوله ۱: قطعات F(ab')2، لوله ۲: Fab، لوله ۳: آنتی بادی سالم، لوله ۴: قطعات Fc

۱۱- $B=[SL]$ و $[S]=[S_T]-[SL]$ $B/[S_T-B]F=K_a[S_T-B]$

۱۲-الف) ۶،۴،۳،۲

ب) بیمار ۱ : ۱۰۰۰، بیمار۲: بدون تیتر، بیمار۳: ۱۰، بیماران ۱و۳ احتمالاً با ویروس برخورد داشته اند.

۱۳- تمامی نوارهای لکه گذاری وسترن نوعی از واکنش را نشان می دهند، به این معنی که هر فرد مورد آزمایش آنتی بادی هایی دارد که حداقل به یکی از آنتی ژن های آنفولانزا متصل می شود.

الف) سلول ها می بایست با هر دو آنتی بادی اولیه انکوبه شوند و پس از شستشو با آنتی بادی های نشاندار شده ثانویه انکوبه شوند. سپس نمونه به دستگاه منتقل شده و توسط لیزر و رنگ فلوروکروم تهییج شده، میزان آن اندازه گیری می شود. ب) ربع چپ فوقانی حاوی سلول های با مقادیر بالای پذیرنده بوده و ربع راست تحتانی حاوی سلول های منتقل شده یا سلول های حاوی مقادیر کم پذیرنده می باشد.

۱۴-یک آزمون ELISPOT از سلول های زنده کامل استفاده کرده و نشان می دهد چه تعداد سلول از یک جمعیت، یک آنتی ژن محلول را عرضه می کنند. اندازه نسبی نقاط نشان دهنده مقدار آنتی ژن تولیدی می باشد. در الایزای ساندویچی تنها میزان آنتی ژن محلول مشخص می شود. در هر دو روش، آنتی بادی در کف پلیت کوت می شود. در الایزای ساندویچی محلول آنتی ژن بدون سلول به پلیت اضافه می گردد

www.bbooks.ir

و در روش ELISPOT سلول های ترشح کننده ی آنتی ژن مستقیماً به پلیت افزوده می شوند.

فصل هفتم

۱-الف) درست. ب) درست. پ) درست. ت) درست. ث) نادرست، ویروس های پوشش دار می توانند توسط کمپلمان لیز شوند. ج) درست.

۲-زیرا نواحی متصل شونده به کمپلمان قابل دسترس نمی باشند و تنها پس از اتصال IgM به آنتی ژن، این نواحی در دسترس قرار می گیرند.

۳- الف) فعال شدن کمپلمان از مسیر کلاسیک تحت تأثیر قرار نمی گیرد.

ب)پاکسازی مجموعه های ایمنی کاهش می یابد.

پ) فاگوسیتوز مختل می گردد.

ت) عرضه آنتی ژن ها به صورت غیرمستقیم تحت تأثیر قرار می گیرد.

۴- لیز باکتری ها، ویروس های پوشش دار و سلول ها توسط شکل گیری MAC؛ اپسونیزاسیون سلول های مهاجم جهت انجام فاگوسیتوز؛ هدف قرار دادن توسط سلول‌های سیستم ایمنی که دارای پذیرنده ی کمپلمان هستند؛ افزایش پاسخ التهابی در جایگاه عفونت؛ هدف قرار دادن مجموعه های ایمنی جهت پاکسازی.

۵- الف) مسیر کلاسیک توسط مجموعه های ایمنی حاوی IgG و IgM آغاز می شود. مسیر آلترناتیو عمدتاً توسط اجزای دیواره سلولی باکتریایی شروع می شود و مسیر لکتین با اتصال MBL به کربوهیدرات های دیواره سلولی باکتری ها آغاز می شود. ب) توالی های واکنش های ابتدایی که مبدل C5 را تولید می کنند، معمولاً یکسان می باشند. مسیر کلاسیک و لکتین بعد از مرحله C1 مشابه بوده ولی این دو مسیر با مسیر آلترناتیو متفاوتند. پ) فعال شدن کمپلمان از هر کدام از این مسیرها نتایج بیولوژیک یکسانی دارد.

www.bbooks.ir

۶- الف) لیز ناظر بی گناه هنگامی که C5b67 آزاد به سلول های سالم مجاور متصل می‌شود، صورت می گیرد. اتصال پروتئین S به C5b67 از نفوذ آن به RBCها جلوگیری کرده و علاوه بر آن HRF و MIRL که توالی های پایانی ایجاد MAC را مهار می کنند نیز از لیز غیراختصاصی با واسطه کمپلمان ممانعت به عمل می آورند.
ب) در نقص پروتئین S، HRF، MIRL یا لنگرهای فسفولیپیدی غشا

۷- جدول ۲-۷ را ببینید.

۸- الف) ۴ ب)۵ پ)۶ ت)۲ ث)۷ ج)۱۱ چ)۳ ح)۱ خ)۸ د)۱۰ ذ)۹ ر)۱۲

فصل هشتم

۱-هر دو پذیرنده از چندین قطعه ژنی استفاده می کنند هر چند که تعداد قطعات V در مورد BCR بیشتر می باشد. قطعات D در زنجیره β مولکول TCR و زنجیره های سنگین BCR وجود دارند. هر دو پذیرنده، انعطاف پذیری اتصالی و افزودن نوکلئوتیدهای P و N را به کار می گیرند در حالی که افزودن نوکلئوتیدهای N در هر دو زیرواحد TCR رخ می دهد و در مورد BCR تنها در زنجیره سنگین دیده می‌شود. با تولید TCR هیچ گونه تغییری در آن ایجاد نمی شود ولی BCR دچار هایپرموتاسیون سوماتیک و بلوغ میل پیوندی می گردد..

۲-تیموس جایگاه تمایز و بلوغ سلول های T_H و CTL می باشد. در این عضو، گزینش مثبت و منفی نیز صورت می پذیرد. بنابراین تیموسیت های تولید شده توسط مغز استخوان در بیماران مبتلا به سندورم دی جرج توانایی بالغ شدن به انواع سلول های اجرایی را ندارند.

۳-الف) LAD از نقص در تولید زنجیره β در LFA-1، CR3 و CR4 که همگی در این زنجیره مشترک می باشند ایجاد می شود. ب) LFA-1 با اتصال به ICAM-1 که بر روی بسیاری از سلول ها بیان می شود در چسبندگی سلولی نقش دارد. این اتصال در

www.bbooks.ir

میانکنش های سلولی T_H با B و CTL با سلول هدف و همچنین لکوسیت های در حال گردش و اندوتلیوم عروقی دخالت دارد.

۴-الف) ژن های بازآرایی شده زنجیره سنپین در موش های SCID فاقد قطعات ژنی D و/یا J می باشند. ب)بر اساس مدل حذف آللی، بازآرایی ژن زنجیره سنگین دارای محصول می بایست قبل از بازآرایی زنجیره سبک κ رخ دهد. به همین دلیل در موش های SCID که فاقد ژن محصول دار زنجیره سنگین می باشند، بازآرایی زنجیره سبک κ صورت نمی پذیرد. پ) بله

۵-الف)۴ ب)۳ پ)۲ ت)۱ ث)۸ ج)۶ چ)۵ ح)۷

۶-الف) نادرست. HIV-2 و SIV بیشتر به هم نزدیکند. ب) نادرست. HIV-1 در شامپانزه ها عفونت ایجاد می کند ولی منجر به سرکوب ایمنی نمی گردد. پ) درست ت) نادرست. زیدوودین در مرحله نسخه برداری معکوس ژنوم ویروس عمل کرده در حالی که ایندیناویر مهارکننده پروتئاز ویروسی می باشد. ث)درست. ج) مبتلایان به مراحل پیشرفته ایدز گاهی اوقات فاقد آنتی بادی ضد HIV قابل تشخیص در سرم می باشند. چ) PCR موجب شناسایی DNA پرویروس HIV در سلول های عفونی نهفته می گردد. ح) درست.

۷-دلیل اصلی تخلیه سلول های T در ایدز آثار سایتوپاتیک عفونت HIV می باشد. در صورت کاهش سطوح ویروس در گردش به واسطه درمان های ضدویروس، تعداد سلول های T افزایش خواهد یافت.

۸-خیر. در مرحله مزمن عفونت HIV، تکثیر ویروس و تعداد سلول های $CD4^+$ T در یک تعادل دینامیک قرار دارند و سطح ویروس نسبتاً ثابت می ماند.

۹- افزایش در میزان سطح ویروس و کاهش سلول های $CD4^+$ T نشان دهنده پیشرفت عفونت HIV از مرحله مزمن به فاز ایدز می باشد.

www.bbooks.ir

۱۰- جهت پایش فعالیت سلول های T_H از پاسخ دهی به آزمون هـای پوسـتی اسـتفاده می‌شود. با پیشرفت ایدز، واکنش پذیری تست های پوستی نسبت به آنتـی ژن هـای معمول کاهش می یابد.

۱۱-پذیرنده های کموکاین های خاصی مثل CXCR4 و CCR5 نیز به عنوان پذیرنـده HIV-1 عمل می کنند. کموکاین ها که لیگاند طبیعی این پذیرنده ها مـی باشـند در اتصال به پذیرنده با ویروس رقابت کرده و در نتیجه با مهار اتصال ویروس از عفونت سلول جلوگیری می کنند.

فصل نهم

۱- الف) نادرست. فاصـله بـین CD_4 و TCR بـرای رسـوب کـردن زیـاد مـی باشـد. ب)درست. پ)درست. ت)نادرست، ژن های ناحیه متغیر TCR و ایمونوگلبولین بر روی کروموزوم های مختلفی قرار دارنـد. ث)نادرسـت، تمـام TCRهـا دارای یـک جایگاه اتصال برای مجموعه پپتید-MHC می باشند. ج)نادرست، به دلیـل ایـن کـه حذف آللی در مورد زنجیره α مولکول TCR کامل نمی باشد، یک سـلول T معمـولاً در اثر بازآرایی هر دو آلل زنجیره α، دارای دو زنجیره α می باشد. چ)درست.

۲-ژن های عملکردی TCR αβ از یک کلون T_C اختصاصی برای یـک هـاپتن بـر روی سلول هدف $H\text{-}2^d$ به یک کلون سلول T_C اختصاصی برای هاپتن دوم بـر روی سـلول هدف $H\text{-}2^k$ منتقل شد. آزمون های لیز سلولی نشان دادند که سـلول هـای T_C تنهـا سلول های هدفی را که آنتی ژن را همراه MHC اولیه عرضه می کردند، می کشند.

۳-شکل ۳-۹ را ببینید.

۴-الف) CD3 مجموعه ای از سه دایمر که حاوی ۵ زنجیره پلی پپتیدی متفاوت هستند، می باشد. این مولکول برای بیان TCR ضروری بوده و در انتقال پیام نقش دارد.

ب) CD4 و CD8 به ترتیب با مولکول های MHC-II و MHC-I واکنش می دهند و موجب افزایش میل ترکیبی سلول های T و مجموعه های پپتید-MHC می شوند.

www.bbooks.ir

پ) CD2 و سایر مولکول ها (LFA-1، CD28 و CD45R) به لیگاندهای خود روی سطح APC یا سلول های هدف متصل می شوند.

۵-الف) TCR ب)TCR پ)Ig ت)TCR/Ig ث)TCR ج)TCR/Ig چ)Ig

۶-۱) mRNAی TCR می بایست با پلی ریبوزوم های متصل به غشا در ارتباط باشد و به همین دلیل، جداسازی mRNA های متصل به غشا می تواند در غنی سازی mRNAی TCR کمک کننده باشد. ۲) سلول های B و T بسیاری از ژن های مشترک را بیان می کنند و mRNA های مخصوص سلول T آنهایی هستند که TCR را کد می کنند. درنتیجه دورگه سازی حذفی با استفاده از mRNA سلول B تمامی cDNAهای مشترک B و T را حذف کرده و تنها cDNA های سلول T باقی خواهد ماند. ۳) ژن های TCR تحت بازآرایی قرار می گیرند و در نتیجه می توانند توسط لکه گذاری ساترن با استفاده از پروب های cDNA مورد شناسایی قرار گیرد.

۷-

Gene product	cDNA source	mRNA source
IL-2	A	B
CD8	C	A یا B
J-chain	E	F
IL-1	D	G
CD3	CیاA, B	H

۸-

Source of spleen cells from LCM infected mice	Release of ^{51}Cr from LCM-infected target cells			
	B10.D2	B10	B10.BR	BALB/c×B10
B10.D2	+	-	-	+
B10	-	+	-	+
BALB/c	+	-	-	+
BALB/b	-	+	-	+

www.bbooks.ir

۹-دو دلیل فراوانی بالای سلول های T آلوراکتیو: ۱) فقدان گزینش منفی برای TCRهای واکنش دهنده با پپتیدهای همراه با MHC بیگانه و ۲) واکنش گری TCR با بخش های مختلف MHC بیگانه.

۱۰- اندازه کلی ساختمان مشخص شده فوراً تعیین می کند که آیا آن TCR تنها همراه با یک آنتی ژن می باشد (γδ TCR) یا همراه با یک مجموعه مولکولی (αβ TCR) می باشد. یک مسئله مهم، زاویه بین دومن های V و C می باشد که در مورد αβ حدود ۱۲۵ درجه و در مورد δγ ۱۱۰ درجه می باشد.

۱۱-موش های با ژن حذف شده زنجیره α فاقد پاسخ های αβ TCR بوده در حالی که پاسخ γδ کامل می باشد. از دست رفتن CD3 منجر به از دست رفتن کامل انتقال پیام هو در αβ و δγ می گردد.

۱۲-هر دو پذیرنده از چندین قطعه ژنی استفاده می کنند هر چند که تعداد قطعات V در مورد BCR بیشتر می باشد. قطعات D در زنجیره β مولکول TCR و زنجیره های سنگین BCR وجود دارند. هر دو پذیرنده، انعطاف پذیری اتصالی و افزودن نوکلئوتیدهای P و N را به کار می گیرند در حالی که افزودن نوکلئوتیدهای N در هر دو زیرواحد TCR رخ می دهد و در مورد BCR تنها در زنجیره سنگین دیده می شود. با تولید TCR هیچ گونه تغییری در آن ایجاد نمی شود ولی BCR دچار هایپرموتاسیون سوماتیک و بلوغ میل پیوندی می گردد.

فصل دهم

۱-الف) تیموسیت های نابالغ هم CD4 و هم CD8 را بیان می کنند در حالی که تیموسیت های بالغ $CD8^+$، CD4 را بیان نمی کنند. جهت تمایز این سلول ها، تیموسیت ها با آنتی بادی ضد CD4 و CD8 نشاندار با ماده فلوروکروم رنگ آمیزی و توسط FACS بررسی می گردند.

www.bbooks.ir

ب)

Transgenic mouse	Immature thymocytes	Mature $CD8^+$ thymocytes
$H\text{-}2^k$ female	+	+
$H\text{-}2^k$ male	+	-
$H\text{-}2^d$ female	+	-
$H\text{-}2^d$ male	+	-

پ) به دلیل این که ژن کد کننده آنتی ژن H-Y بر روی کروموزوم Y واقع شده، این آنتی ژن در ماده ها حضور ندارد. تیموسیت های حاوی TCR ترانس ژنیک که محدود به $H\text{-}2^k$ می باشند، تحت گزینش مثبت در نرها و ماده های $H\text{-}2^k$ قرار می‌گیرند. هرچند که گزینش منفی منجر به حذف تیموسیت های حاوی پذیرنده ترانس ژنیک ویژه آنتی ژن H-Y در موش های نر $H\text{-}2^d$ می گردد.

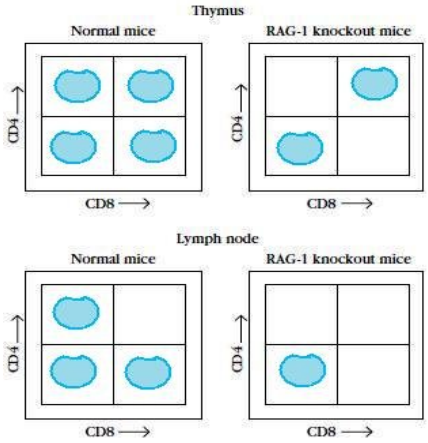
ت) به دلیل این که ترانس ژنیک های $H\text{-}2^d$ مولکول های مناسب MHC را بیان نمی‌کنند، سلول های T حاوی TCR ترانس ژن تحت گزینش مثبت قرار نمی گیرند.

۲-سایکوسپورین A تولید NF-ATc که یکی از عوامل نسخه برداری لازم جهت تکثیر سلول های T_H فعال شده با آنتی ژن می باشد را مهار می کند.

۳-الف) NF-κB و NF-ATc

ب) افزاینده IL-2

www.bbooks.ir



۴-الف) مولکول های کلاس یک K، D و L و مولکول های کلاس دو IA

ب) تنها مولکول های کلاس یک

پ) موش های طبیعی $H\text{-}2^b$ می بایست دارای هر دو سلول $CD4^+$ T و $CD8^+$ باشند زیرا هم مولکول های MHC-I و هم MHC-II بر سطح سلول های استرومایی تیموسی طی گزینش مثبت بیان می شوند.

۵- الف) دهنده تیموس در آزمایش A، $H\text{-}2^d$ و در آزمایش B، $H\text{-}2^b$ بوده

ب) هاپلوتایپ دهنده تیموس تعیین کننده ی محدودیت به MHC سلول های T در موش های کایمریک می باشد، بنابراین سلول های هدف $H\text{-}2^b$ در آزمایش B لیز شدند.

پ) سلول های هدف $H\text{-}2^k$ در هیچ کدام از آزمایشات لیز نشدند.

۶-الف)پروتئین کینازها ب)CD45 پ)B7 ت)IL-2 ث)CD28؛ B7 ج)CD8 چ)MHC-II؛ B7 ح)CD4 خ) فسفولیپاز د)پروتئین کیناز ذ)CD28؛ CTLA-4؛ سلول هدف

۷-الف) به دلیل این که pre-TCR که به آنتی ژن متصل نشده با CD3 ارتباط دارد، سلول های بیان کننده ی pre-TCR همانند TCRهای متصل شونده به آنتی ژن با

www.bbooks.ir

آنتی CD3 رنگ می گیرند. از این نتایج، تعیین این که چه تعداد از سلول های رنگ گرفته، TCR کامل را بیان می کنند غیر ممکن است.

ب) خیر، به دلیل این که برخی از سلول های رنگ گرفته ی CD3، pre-TCR ، برخی TCR αβ و برخی TCR δγ را بیان می کنند. با یک تفریق ساده نمی توان تعداد سلول های Tc را محاسبه کرد. برای این کار به آنتی بادی ضد CD8 نشاندار با فلورسنت نیاز می باشد.

۸- به کارگیری TCR موجب فعال شدن فسفولیپاز C شده که PIP2 را شکسته، DAG و IP3 را تولید می کند. IP3 و DAG به عنوان پیامبرهای ثانویه آثار بیولوژیک متعددی دارند. DAG، پروتئین کیناز C را فعال کرده و IP3 یون کلسیم را از مخازن داخل سلولی رهاسازی می کند. فوربول استر از آثار DAG تقلید کرده و یونوفورهای کلسیم با اجازه دادن ورود کلسیم از خارج به داخل سلول می توانند موجب افزایش غلظت های داخل سلولی کلسیم شوند.

۹- سلول های δγ نیازی به پردازش آنتی ژن توسط MHC ندارند. بنابراین محدود به شناسایی آنتی ژن های پروتئینی نمی باشند و روند شناسایی آنها نیز بیشتر شبیه پذیرنده های شناسایی کننده الگو در سیستم ایمنی ذاتی می باشد.

۱۰- در صورتی که سلول های T پیامی را از TCR دریافت کنند (پیام ۱) ولی از CD28 پیامی به آنها نرسد (پیام ۲) برخورد با آنتی ژن آنها را آنرژیک می کند. در طرف مقابل، در صورت اتصال سلول های T به سوپرآنتی ژن ها، TCR ها فارغ از ویژگی آنتی ژنی تحریک می گردند و این میانکنش به اندازه ای نزدیک بوده که هر دو پیام تولید شده و فعالیت پلی کلونال سلول های T دیده می شود.

www.bbooks.ir

فصل یازدهم

۱- الف) نادرست، بازآرایی موفق V_H-D_H-J_H طی مرحله pro-B رخ می دهد. تکمیل موفق بازآرایی زنجیره سنگین نشانه شروع مرحله ی pre-B می باشد که در آن زنجیره های μ غشایی بیان می شوند.

ب) نادرست، سلول های B نابالغ تنها IgM را بیان می کنند.

پ) نادرست، TdT که افزودن نوکلئوتیدهای N را کاتالیز می کند تنها در سلول های pro-B عرضه می شود. ت) درست.

ث) درست.

ج) نادرست، سلول های pro-B جهت تکامل به pre-B می بایست با سلول های استرومایی واکنش دهند. پیشرفت سلول های pre-B به سلول های B نابالغ به IL-7 رها شده از سلول های استرومایی نیاز داشته ولی به ارتباط مستقیم نیاز ندارد.

چ) درست.

۲-الف) سیتوپلاسم و غشا با هیچ رنگی، رنگ نمی گیرند. ب) رنگ آمیزی ضد μ در سیتوپلاسم و غشا پ) رنگ آمیزی ضد μ در سیتوپلاسم و غشا ت) رنگ آمیزی ضد μ و ضد δ در سیتوپلاسم و غشا ث) رنگ آمیزی ضد μ در سیتوپلاسم؛ غشا رنگ نمی گیرد ولی IgM پنتامر ترشح می کند.

۳-کمک پذیرنده سلول B از سه پروتئین غشایی TAPA-1، CR2 و CD19 تشکیل شده که مورد اخیر به خانواده بزرگ ایمونوگلبولین تعلق دارد. CR2 می تواند به آنتی ژن های پوشیده با کمپلمان که به BCR متصل شده، اتصال یابد. این اتصال موجب فسفریلاسیون CD19 می گردد. تیروزین کینازهای خانواده ی Src (Fyn و Lyn) به CD19 فسفریله متصل شده و مسیرهای انتقال پیام را با فسفولیپاز C آغاز می کنند.

www.bbooks.ir

۴-الف) فعال شدن سلول B با آنتی ژن های پروتئینی محلول بـه سـلول هـای T_H نیـاز دارد. اتصال متقاطع mIg روی سلول B دست نخورده توسط آنتی ژنن هـای وابسـته به تیموس، پیام ۱ را ایجاد کرده و اتصال بعدی CD40 سلول B بـا CD40L سـلول T_H فعال شده، پیام ۲ را تولیـد مـی کنـد. اثـر ترکیـب ایـن دو پیـام سـلول B را از مرحله‌ی G_0 چرخه سلولی وارد مرحله G_1 کرده و بیان پذیرنده هـای سـایتوکاینی را در سلول B افزایش می دهد. اتصال به سایتوکاین های سـلول T_H پیـام پیشـرفت را فراهم می کند که تکثیر سلول های B فعال شده را تحریک می کند.

ب) اتصال LPS که یک آنتی ژن مستقل از تیموس نوع یک می باشد، پیام هـای ۱ و ۲ را ایجاد می کند. تکثیر کارآمـد سـلول هـای B بـه پیـام ایجـاد شـده بـه واسـطه سایتوکاین های سلول T_H نیازمند است.

۵-الف) ناحیه روشن

ب) پاراکورتکس

پ)سنتروبلاست؛ ناحیه تاریک

ت) سنتروسیت؛ سلول های دندریتیک فولیکولی

ث) ناحیه روشن؛ سلول های T_H

ج) ناحیه روشن

چ) مدولا

ح) سنتروبلاست ها

۶-الف) جدول ۲-۱۱ را ببینید. ب)آنتی ژن های مستقل از تیموس

۷-الف) هرکدام از mIg ها با یک مولکول از هترودایمر Igα/Igβ مرتبط بوده که همگـی با هم پذیرنده سلول B را تشکیل می دهند. هر دو مولکول Igα و Igβ دارای دم های سیتوپلاسمی بلندی بوده و قادربه انتقال پیام به داخل سلول می باشند.

www.bbooks.ir

ب) پیام های فعال کنندگی و تکثیر سلول B ایجاد شده توسط اتصال به آنتی ژن و میانکنش با سلول T_H، آغازگر مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی می باشند که در نهایت منجر به تولید عوامل نسخه برداری می گردد. این عوامل به هسته منتقل شده و در آنجا نسخه برداری از ژن های خاصی را تحریک یا مهار می کنند.

۸-الف) درست

ب) درست

پ) درست

ت) نادرست، رقابت آنتی ژنی پاسخ به SRBC را کاهش خواهد داد.

ث) درست

ج) نادرست، AP-1 یک فاکتور نسخه برداری است که در صورت فعال شدن در اثر آبشار انتقال پیام از سیتوپلاسم به هسته منتقل می گردد.

چ) درست

ح) نادرست، تعویض رده از مشخصات پاسخ به آنتی ژن های وابسته به تیموس می باشد. آنتی ژن های مستقل از تیموس، سلول های B را بدون کمک سلول های T_H فعال می کنند.

خ) نادرست، سلول های B در غدد لنفاوی به سلول های اجرایی تمایز می یابند.

د) نادرست، در صورت تکامل سلول های B به پلاسماسل، تولید ایمونوگلبولین غشایی کاهش یافته و به میزان آنتی بادی ترشحی افزوده می گردد. به طوری که پلاسماسل در برابر حضور آنتی ژن پاسخی از خود نشان نمی دهد.

ذ) درست

۹-الف) تعویض رده

ب) IL-4

پ) VpreB؛ λ5

www.bbooks.ir

ت) پلاسماسل ها

فصل دوازدهم

۱-الف) نادرست، پذیرنده IL-2 با میل ترکیبی بالا از سه زیرواحد α، β و γ که همگی پروتئین های غشایی هستند، تشکیل شده است.

ب) نادرست، آنتی بادی ضد TAC به زنجیره α ۵۵ کیلودالتونی IL-2R متصل می‌شود.

پ) با وجودی که تمام پذیرنده های سایتوکاینی کلاس یک و دو دارای ۲ یا ۳ زیرواحد می باشند، پذیرنده های IL-8، IL-1، TNF-α و TNF-β و برخی دیگر از سایتوکاین ها تنها یک زنجیره دارند.

ت) نادرست، بر سطح سلول های T در حال استراحت، مقادیر پایینی از زنجیره β پذیرنده IL-2 بیان می شود، در حالی که بیان آن پس از فعال شدن سلول به شدت افزایش می یابد.

ث) نادرست، دومن های سیتوزولی پذیرنده های سایتوکاینی کلاس Iو II ارتباط نزدیکی با تیروزین کینازهای داخل سلولی داشته ولی خود فاقد این خاصیت می‌باشند.

۲-تنها سلول های T فعال شده با آنتی ژن تکثیر می شوند، زیرا IL-2R با میل پیوندی بالا را بیان می کنند. در حالی که سلول های در حال استراحت به IL-2 پاسخ نمی‌دهند.

۳-سایتوکاین ها، فاکتورهای رشد و هورمون ها همگی پروتئین های ترشحی هستند که به پذیرنده های سلول هدف اتصال می یابند و موجب پاسخ های زیستی مختلفی می‌گردند. سایتوکاین ها توسط طیف وسیعی از سلول ها تولید می شوند هرچند که این تولید به شدت تنظیم شده می باشد. اکثر سایتوکاین ها به صورت اتوکراین و پاراکراین عمل می کنند.

۴-الف) زنجیره های γ و β

www.bbooks.ir

ب) زنجیره های α، β و γ

پ) زنجیره های β و γ، CsA از فعالیت ژن هایی که منجر به افزایش بیان این زنجیره ها می شوند، جلوگیری می کند.

ت) زنجیره های β و γ

ث) زنجیره های α، β و γ

ج) زنجیره های β و γ

۵-الف) سوپرآنتی ژن ها به مولکول های MHC-II در خارج از شیار اتصال به پپتیدمتصل می شوند؛ برخلاف آنتی ژن های طبیعی، آنها توسط APCها به داخل کشیده نشده و پردازش نمی شوند، بلکه مستقیماً به MHC-II اتصال می یابند. سوپرآنتی ژن ها همچنین به نواحی از دومن Vβ از مولکول TCR متصل می شوند. این مولکول ها برای یک یا تعداد کمی از دومن های Vβ ویژگی داشته و قادر به فعالسازی تمام سلول های T دارای آن Vβ می باشند.

ب) یک سوپرآنتی ژن مشخص قادر به فعال سازی ۵ تا ۲۵ درصد سلول های T_Hو در نتیجه تولید انبوه سایتوکاین ها می باشد. به نظر می رسد که مقادیر بالای سایتوکاین ها عامل اصلی علائم مرتبط با مسمومیت غذایی و سندرم شوک سمی باشد.

پ) بله، سوپرآنتی ژن ها برای اثر کردن می بایست با TCR و MHC-II مجموعه تشکیل دهند.

۶-پذیرنده های IL-3، IL-5 و GM-CSF حاوی یک زنجیره ی انتقال پیام مشترک β می باشند. اتصال سایتوکاین به هرکدام از این پذیرنده ها احتمالاً موجب القای یک مسیر انتقال پیام مشترک می گردد.

۷-الف) زیررده TH1 مسئول فعالیت های کلاسیک سلولی می باشد. عفونت های ویروسی و پاتوژن های داخل سلولی احتمالاً موجب القای پاسخ های TH1 می گردند.

www.bbooks.ir

ب) زیررده TH2 به عنوان کمک کننده در فعال شدن سلول های B عمل می کنند و جهت پاسخ دهی به باکتری های با زندگی آزاد و انگل های کرمی مناسب می باشند.

۸- الف) نادرست، با وجودی که IL-6 موجب افزایش تولید پروتئین های فاز حاد می‌گردد، این پروتئین ها، پیش التهابی بوده و موجب خاموش شدن پاسخ خای ایمنی نمی گردند.

ب) نادرست، سایتوکاین ها می توانند به صورت اتوکراین، پاراکراین و اندوکراین عمل کنند.

پ) درست

ت) نادرست، سلول های TH1، IFN-γ، IL-2 و TNF-β ترشح کرده که موجب فعال شدن ماکروفاژها و افزایش تولید IgG توسط سلول های B می گردند.

ث) درست

ج) نادرست، فعال شدن سلول های T منجر به تولید IL-2 و پذیرنده آن و نه IL-1 می گردد.

۹-ربع راست فوقانی. پذیرنده با میل پیوندی متوسط بر روی سلول های ربع چپ فوقانی بیان می شود و پذیرنده های با میل پیوندی پایین بر روی سلول های ربع راست تحتانی عرضه می شوند. ربع چپ تحتانی حاوی سلول هایی است که IL-2R را بیان نمی کنند.

۱۰-الف) ۲، ۷ ب) ۴، ۸ پ) ۹ ت) ۵ ث) ۶ ج) ۱، ۳ چ) ۳

۱۱- الف) IL-4

ب) کموکاین‌ها

پ) پروتئین های G

ت) IL-7

ث) خیر

www.bbooks.ir

ج) IFN-α

۱۲- ت

۱۳-الف، ب، پ، ت

فصل سیزدهم

۱-الف) نادرست، کموکاین های متنوعی برای تمام انواع لکوسیت ها مؤثر می باشند.

ب) نادرست، اینتگرین ها توسط انواع لکوسیت ها بیان شده ولی توسط اندوتلیوم عرضه نمی شوند.

پ) درست ت) درست ث) درست

ج) نادرست، گرانولوما ها ممکن است در جایگاه عفونت مزمن شکل گیرند ولی در پاسخ های التهابی حاد دیده نمی شوند.

۲-بیان افزایش یافته ICAM ها بر روی سلول های اندوتلیال عروقی در نزدیکی جایگاه التهاب، اتصال لکوسیت ها به دیواره عروق و مهاجرت به بافت را تسهیل می کند.

۳- الف) غلتیدن، فعال شدن، چسبیدن و مهاجرت از میان سلول های اندوتلیال.

ب) نوتروفیل ها اغلب در جایگاه های التهاب در نتیجه ی اتصال به مولکول های چسبانی که در اثر التهاب بر روی اندوتلیوم عروق بیان شده اند، از رگ خارج می شوند.

پ) زیررده های مختلف لنفوسیت ها، پذیرنده های لانه گزینی را بیان می کنند که به مولکول های چسبان ویژه بافت متصل می شوند، بنابراین تفاوت در ۱: آدرسین های عروقی ۲: پذیرنده های لانه گزینی و ۳: کموکاین ها و پذیرنده های آنها، تعیین کننده الگوی بازگردش زیررده های مشخص لنفوسیت ها می باشند.

۴-IL-1، IL-6 و TNF-α

www.bbooks.ir

۵-TNF-α رها شده توسط ماکروفاژهای بافتی فعال شده طی پاسخ التهابی حاد موضعی، بر روی ماکروفاژها و سلول های اندوتلیال تأثیر گذاشته و موجب القای فاکتورهای محرک کلنی می شود.

۶-الف) N ب) ۱ پ) N ت) ۳ ث) N ج)۲ چ) ۳

۷-IFN-γ فعال شدن ماکروفاژها را تحریک کرده و موجب افزایش بیان مولکول های MHC-II، افزایش فعالیت میکرب کشی و تولید سایتوکاین می شود. تجمع تعداد زیادی از ماکروفاژهای فعال شده، مسئول آسیب های بافتی مرتبط با التهاب مزمن می باشد. TNF-α ترشح شده توسط ماکروفاژهای فعال نیز در آسیب های بافتی التهاب مزمن دخالت دارد. این دو سایتوکاین به صورت سینرژیسم در تسهیل مهاجرت تعداد زیادی از سلول ها به جایگاه التهاب مزمن عمل می کنند.

۸-اتصال تمامی این سایتوکاین ها به پذیرنده هایشان بر روی هپاتوسیت ها، تشکیل فاکتور نسخه برداری NF-16 که نسخه برداری از پروتئین های فاز حاد را تحریک می کند را القا می کنند.

۹-الف) ۷ ب)۱ و ۶ پ)۱۰ و ۱۱ ت) ۲ ث)۸ ج)۴ چ)۱۰ ح)۹

۱۰- الف) نقص در لانه گزینی لنفوسیت در بافت های مخاطی

ب) نقص در غلتیدن لکوسیت ها

پ) نقص چسبندگی لکوسیتی، افزایش عفونت های باکتریایی

۱۱-الف و ت مطابقت دارند

۱۲-پیوند مغز استخوان با استفاده از سلول های بنیادی جدا شده از بیمار که در آنها ژن ناقص با یک رونوشت دارای عملکرد، جایگزین شده باشد. همچنین می توان پیوند مغز استخوان را از یک دهنده سازگار دریافت کرد.

۱۳-نوتروفیل ها می توانند به P سلکتین هایی که به سرعت بیان می شوند و مقادیر پایین ICAM-1 که به صورت دائمی بر سطح سلول های اندوتلیال بیان می گردند،

www.bbooks.ir

متصل شوند. در حالی که منوسیت ها به ICAM-1، E سلکتین و VCAM در مقادیر بالاتر متصل شده که این مولکول ها با تأخیری که برای ساخت پروتئین های جدید لازم می باشد، بر سطح سلول های اندوتلیال بیان می گردند.

فصل چهاردهم

۱-الف) درست ب) درست پ) درست ت) نادرست، سلول های T_C از دو مسیر سلول های هدف را می کشند. یک مسیر به پرفورین وابسته بوده و دیگری از FasL بیان شده توسط CTLها جهت کشتن سلول های هدف بهره می گیرد. ث) درست

۲-آنتی بادی منوکلونال ضد LFA-1 می بایست از تشکیل کونژوگه CTL- سلول هدف جلوگیری کند. این می تواند کشتن سلول هدف را مهار کرده و در نتیجه موجب کاهش رهاسازی کروم ۵۱ در آزمون CML گردد.

۳-

تکثیر	جمعیت ۲	جمعیت ۱
۱ و ۲	CBA	C57BL/6
۱	CBA مجاور شده با میتومایسین C	C57BL/6
۱	CBA×C57BL/6	C57BL/6
هیچکدام	C57L	C57BL/6

۴-الف) سلول های $CD4^+$ T_H

ب) می توان سلول ها را با آنتی بادی منوکلونال ضد CD4 که با فلورسئین نشاندار شده و آنتی بادی منوکلونال ضد CD8 که با رودامین نشاندار شده انکوبه کرد. سلول‌های در حال تکثیر تنها با معرف ضد CD4 رنگ می گیرند.

www.bbooks.ir

پ) به دلیل این که سلول های T_H، مولکول های MHC-II آلوژن را روی سلول های محرک شناسایی می کنند، فعال شده و شروع به ترشح IL-2 می کنند که موجب تکثیر خود سلول می شود. در نتیجه میطان تکثیر مستقیماً با سطح IL-2 رابطه دارد.

۵-الف) هر دو ب)هیچ کدام پ)CTL ت)CTL ث)T_H ج)CTL چ) T_H ح)CTL خ)T_H د)T_H ذ)هر دو ر)هر دو ز)هر دو ژ)هر دو س)T_H ش) ص)CTL ض)T_H

-۶

Source of spleen cells from LCM infected mice	Release of ^{51}Cr from LCM-infected target cells			
	B10.D2	B10	B10.BR	BALB/c×B10
B10.D2	+	-	-	+
B10	-	+	-	+
BALB/c	+	-	-	+
BALB/c×B10				
H-$2^{b/d}$	+	+	-	+

۷- تعیین فعالیت Tc اختصاصی برای آنفولانزا، با انکوباسیون سلول های طحال موش مبتلا به آنفولانزا با سلول های هدف هم ژن عفونی با آنفولانزا و تعیین فعالیت TH با انکوباسیون سلول های طحال موش مبتلا به آنفولانزا و APCهای عرضه کننده پپتید آنفولانزا و در نهایت اندازه گیری میزان تولید IL-2 انجام می شود.

۸-زیرا سلول های طبیعی تقریباً مقادیر بالایی از مولکول های MHC-I را عرضه می‌کنند که به نظر می رسد آنها را در برابر سلول های NK محافظت می کنند.

۹-در هیچ کدام از موارد الف تا ث هیچ گونه لیز با واسطه CTL به چشم نمی خورد، زیرا هر دو مسیر پرفورین و Fas تخریب شده اند.

۱۰-الف) درست ب)درست پ)درست ت)نادرست، آبشار انتقال پیام در مورد Fas از FADD استفاده می کند نه پروتئین های G ث)درست ج)نادرست،

www.bbooks.ir

FasL بر روی سلول های القا کننده ی آپوپتوز بیان می شود و سلول هدف Fas را بیان می کند.

۱۱-در ADCC سلول های بیان کننده پذیرنده های Fc آنتی بادی متصل به سطح سلول که می تواند یک سلول توموری یا سلول آلوده به ویروس باشد را شناسایی می‌کنند. در صورتی که آنتی ژن متصل به آنتی بادی توسط سلول های طبیعی عرضه شود، سلول های غیرعفونی نیز هدف واقع می شوند. نوتروفیل ها، ائوزینوفیل ها و ماکروفاژها به سلول های بیان کننده آنتی ژن متصل شده و آنزیم های لیتیک رها می‌کنند. سلول های NK و ائوزینوفیل ها پرفورین آزاد می کنند و ماکروفاژها و سلول های NK، TNF رها می کنند. نتایج حاصل از آنها مرگ سلولی و آسیب بافتی می باشد که می تواند به ازدیاد حساسیت نوع دو یا بیماری های خود ایمن منجر شود.

فصل پانزدهم

۱-الف)نادرست، IL-4 تولید IgE را افزایش می دهد.

ب) درست

پ) نادرست، آنتی هیستامین ها در درمان ازدیاد حساسیت نوع یک به کار می روند.

ت) نادرست، اکثر آلرژن های گرده دارای چندین جزء آلرژیک می باشند.

ث) نادرست، بر خلاف IgG، IgE نمی تواند از جفت عبور کند.

ج) درست چ) درست ح) درست خ) درست د) درست

ذ) نادرست، به نظر می رسد که تزریقات مکرر آلرژن موجب جا به جایی پاسخ به سمت TH1 شده و به جای IgE، IgG تولید گردد.

۲-الف) آنتی بادی های کامل موجب اتصال متقاطع FcεRI موجود روی ائوزینوفیل ها و بازوفیل ها شده و منجر به فعالیت و دگرانولاسیون آنها می شوند. میانجی های رها شده موجب، گشادی عروق، انقباض عضلات صاف و واکنش تورم و قرمزی موضعی

www.bbooks.ir

می‌گردند. به دلیل یک ظرفیتی بودن قطعه Fab این قطعه قادر بـه اتصـال متقـاطع FcεRI نبوده هرچند که این نوع از آنتی بادی ضد پذیرنـده بـا اتصـال بـه FcεRI اتصال IgE را به آن مهار می کند.

ب) پاسخ القا شده توسط آننتی بادی های کامل ضد FcεRI به IgE اختصاصی ضـد آلرژن وابسته نبوده و در موش های آلرژیک و غیر آلرژیک یکسان می باشد.

۳-آنتی بادی های منوکلونال کایمریک علیه سم مار که حاوی نـواحی متغیـر موشـی و نواحی ثابت زنجیره سبک و سنگین انسانی باشند.

۴-الف) ازدیاد حساسیت نوع یک

ب) ازدیاد حساسیت نوع سه

پ) ازدیاد حساسیت نوع چهار

۵-الـف) ۴ ب)هـر چهـار نـوع پ)۱ و ۳ ت)۴ ث)۱ ج)۲ چ)۱ ح)۱ خ)۲ د)۲ ذ)۱

۶-

ازدیاد حساسیت				رخداد ایمونولوژیک
نوع چهار	نوع سه	نوع دو	نوع یک	
			+	دگرانولاسیون ماست سل ها بواسطه IgE
		+		لیز سلول های خونی بواسطه کمپلمان
+				تخریب بافت در پاسخ به پیچک سمی
	+	برخی		دگرانولاسیون ماست سل بواسطه آنافیلاتوکسین ها
	+			کموتاکسی نوتروفیل ها
			+	کموتاکسی ائوزینوفیل ها
+				فعالیت ماکروفاژ بواسطه اینترفرون گاما
	+			رسوب مجموعه آنتی ژن – آنتی بادی در غشـای پایـه عروق
			+	مرگ ناگهانی به دلیل شوک عروقی پس از تزریق آنتـی ژن

www.bbooks.ir

۷-سلول های Bخاطره که طی حاملگی قبل ایجاد شده اند، فعال شده و IgG ضد Rh تولید می کنند که از جفت عبور کرده و به RBC های جنین متصل می شوند. کمپلمان بر سطح سلول های قرمز خونی فعال شده و به لیز آنها می انجامد.

۸-مجموعه های ایمنی در عروق کوچک رسوب کرده و موجب التهاب و در پی آن آسیب بافتی می شوند.

۹-الف)۱ ب)۵ پ)۲ ت)۳ ث)۷ ج)۶ چ)۴

۱۰-مرحله ی ابتدایی آسم با دگرانولاسیون ماست سل هاو رهاسازی میانجی های التهابی مثل هیستامین، LTC4، PGD2 مشخص می شود که عواقب آن در ریه به صورت ترشح مخاط، گشادی عروق، انقباض برونش می باشد. پاسخ مرحله دیررس با ارتشاح سایر لکوسیت ها که مشخصه التهاب مزمن می باشد، همراه است که شامل، ائوزینوفیل ها، لنفوسیت ها و نوتروفیل ها در فضای راه های هوایی و رهاسازی میانجی هایی که نشانه پاسخ TH2 می باشند مانند: PAF، IL-4، IL-5، ECF، NCF، TNF-α و LTC4. نتایج آن در ریه شامل التهاب موضعی، آسیب، از بین رفتن سلول های اپی تلیال، فیبروز غشای پایه و کاهش عملکرد ریه می باشد.

فصل شانزدهم

۱-فرآیندی که تحمل مرکزی نامیده می شود، در تیموس و مغز استخوان موجب حذف لنفوسیت هایی می گردد که دارای پذیرنده برای آنتی ژن های خودی باشند. یک لنفوسیت خودواکنشگر می تواند در صورتی که در این اعضای لنفاوی اولیه با آنتی ژن برخورد نکند یا میل ترکیبی برای آنتی ژن های خودی به قدری نباشد که منجر به مرگ سلولی گردد، از حذف شدن بگریزد. سلول هایی که از تحمل مرکزی گریخته اند به واسطه ی تحمل محیطی از آسیب رساندن به میزبان باز نگه داشته

www.bbooks.ir

می شوند. تحمل محیطی از سه راهکار عمده: القای مرگ سلولی یا آپوپتوز، القای بی پاسخی و القای جمعیت سلول های Treg اختصاصی استفاده می کند.

۲-تحمل برای حذف سلول های B و T خودواکنشگر ضروری می باشد. فقدان تحمل که می تواند به صورت بی پاسخی به یک آنتی ژن تلقی شود، می تواند به خودایمنی شدید بیانجامد.

۳-ویرایش پذیرنده روندی است که سلول های B توسط آن نواحی متغیر ایمونوگلبولین خودواکنشگر را با یک ژن V دیگر جا به جا کرده و در نتیجه ویژگی آنتی ژنی تغییر می کند.

۴-الف)۶ ب)۸ پ)۱۰ ت)۹ ث)۱۲ ج)۷ چ)۳ ح)۱۱ خ)۲ د)۱ ذ)۵ ر)۴

۵-الف) EAE با تزریق MBP همراه با ادجوانت کامل فروند به موش یا رت ایجاد می شود.

ب) حیواناتی که از EAE رهایی می یابند به EAE مقاوم شده و در صورت تزریق مجدد MBP به EAE مبتلا نمی شوند.

پ) در صورتی که سلول های T موش های مبتلا به EAE به موش های سینژن طبیعی منتقل شوند، این موش ها دچار EAE می گردند.

۶-مشخص شده که تعدادی از ویروس ها دارای پروتئین هایی هستند که توالی مشابه با MBP دارند. ایمن سازی خرگوش ها با این توالی های ویروسی منجر به القای EAE می گردد.

۷-۱) ویروس می بایست شاخص های آنتی ژنیکی را بیان کند که با اجزای خودی واکنش متقاطع داشته باشند. ۲) عفونت ویروسی می بایست موجب القای غلظت های موضعی IFN-γ و در نتیجه افزایش بیان مول کول های MHC-II موضعی گردد.

www.bbooks.ir

۳) ویروس باید به عضو آسیب رسانده و در نتیجه موجب آشکار شدن آنتی ژن‌هایی گردد که در حالت طبیعی دور از دسترس سیستم ایمنی قرار دارند.

۸-الف) به دلیل این که IFN-γ توسط سلول های β پانکراس بیان می شود.

ب) یک ارتشاح سلولی از لنفوسیت ها و ماکروفاژها مشابه آنچه در IDDM دیده می شود به چشم می خورد.

پ) IFN-γ موجب القای MHC-II در سلول های پانکراس می گردد.

ت) عفونت ویروسی موضعی در پانکراس موجب تولید موضعی IFN-γ و فعالیت سلول های T می گردد که وقایعی مشابه با حالت فوق صورت می پذیرد.

۹-آنتی بادی های منوکلونال ضد CD4 جهت مهار فعالیت سلول های TH به کار می‌روند. تلاش شده تا از آنتی بادی های منوکلونال ضد IL-2R با میل پیوندی بالا در مهار سلول های TH فعال شده استفاده شود.

۱۰-الف) درست ب) نادرست، IL-12 که موجب توسعه سلول های TH1 می شود، پاسخ خودایمنی به MBP همراه با ادجوانت کامل فروند را افزایش می دهد. پ)نادرست، حضور HLA-B27 به شدت با استعداد ابتلا به اسپوندیلیت آنکیلوزان مرتبط بوده ولی تنها عامل مورد نیاز نمی باشد. ت)درست ث)درست

۱۱-الف) ۱؛۵ ب)۱، ۲، ۴ پ)۱،۳ ت)۱، ۲، ۳

۱۲-فعالیت اجزای ابتدایی کمپلمان به شکل گیری C3b منجر می شود که به CR1 سطح RBCها متصل می شود تا جریان خون از حضور مجموعه های ایمنی پاکسازی شود. این مجموعه ها به کبد و طحال منتقل شده که در آنجا از سطح RBCها جدا و تجزیه می شوند. در افراد فاقد C1، C4 یا CR1 کمپلمان از مسیرهای آلترناتیو و لکتین فعال می شود.

www.bbooks.ir

۱۳-الف) به عنوان عواقب عفونت با باکتری های گرم منفی، CMV یا EBV ممکن است دیده شود و برخی از سلول های B خودواکنشگر می توانند در این روند تحریک شوند.

ب) در صورت آشکار شدن آنتی ژن های مخفی ممکن است سلول های T خودواکنشگر تحریک شوند.

پ) پاسخ ایمنی علیه ویروس ممکن است با آنتی ژن های خودی واکنش متقاطع بدهد.

ت) به خودایمنی منجر نمی شود هرچند که در صورت عدم کنترل بیان آن در تیموس، ممکن است سلول های خودواکنشگر تولید شوند.

ث) در IDDM و بیماری گریوز دیده می شود و تصور می شود که عرضه غیر مناسب آنتی ژن بتواند سلول های T خودواکنشگر را تحریک نماید.

۱۴-الف) ۱:نادرست ۲:نادرست ۳:نادرست ۴:درست

ب) ۱۰۰

پ) هر سه می توانند جهت تأیید این آزمایش به کار برده شوند.

فصل هفدهم

۱-الف) نادرست. رد حاد با واسطه سلول رخ می دهد. ب) درست پ) نادرست. لکوسیت های مهاجر سلول های دندریتیک دهنده بوده که MHC-I و مقادیر بالای MHC-II را عرضه می کنند. این سلول ها از بافت پیوند شده به غدد لنفاوی موضعی مهاجرت کرده و در آنجا سلول های میزبان به آلوآنتی ژن ها پاسخ می دهند. ت) نادرست، پیوندی که از نظر آنتی ژن های HLA سازگار باشد ممکن است به واسطه تفاوت های آنتی ژن های سازگاری بافتی فرعی که توسط لوکوس های دیگر کد می شوند، پس زده شود.

www.bbooks.ir

۲-الف) چاهک های تیره نشان دهنده جذب رنگ توسط سلول ها و مثبت بودن آزمایش می باشد. دهنده ۲ از نظر تمامی آنتی ژن های تست شده با گیرنده سازگاری کامل داشته و انتخاب اول می باشد.

ب) دهنده ۱ تنها در یک آنتی ژن ناسازگار بوده و دومین انتخاب به شمار می رود.

پ) دهنده ۴ برای هر دو آنتی ژن HLA-A و HLA-DR ناسازگار و تنها در مورد آنتی ژن HLA-B سازگار می باشد. دهنده های ۱ و ۳ هر دو در یک آنتی ژن ناسازگارند و این در حالی است که ناسازگاری دهنده ۳ مربوط به HLA-DR است که یک مولکول MHC-II می باشد. در ناسازگاری MHC-II احتمال پس زدن پیوند بیشتر از MHC-I می باشد. به همین دلیل احتمال پس زدن پیوند دهنده ۱ کمتر است.

ت) جهت تعیین سازگاری می بایست یک آزمون مختلط لنفوسیتی یک طرفه انجام گیرد.

۳-

نوع پس زدن	پاسخ	گیرنده	دهنده
FSR	R	C3H	BALB/c
FSR	R	Rat	BALB/c
	A	Nude mouse	BALB/c
SSR	R	C3Hکه قبلاً از BALB/c پیوند گرفته	BALB/c
FSR	R	C3Hکه قبلاً از C57BL/6 پیوند گرفته	BALB/c
	A	BALB/c	BALB/c
	A	BALB/c × C3H	BALB/c
FSR	R	C3H × C57BL/6	BALB/c
FSR	R	BALB/c	BALB/c × C3H
SSR	R	BALB/c که قبلاً از F1 پیوند گرفته	BALB/c × C3H

۴- الف) GVHD با شناسایی آلوآنتی ژن های سلول های میزبان که ایمنی آن سرکوب شده توسط سلول های T دهنده ایجاد می شود. سایتوکاین های رها شده توسط این

www.bbooks.ir

سلول ها، بسیاری از سلول های اجرایی مثل سلول های NK، CTLها و ماکروفاژها را فعال کرده که به بافت میزبان صدمه می زنند. علاوه بر آن سایتوکاین هایی مثل TNF می توانند موجب آسیب مستقیم سیتوتوکسیک سلول های میزبان گردند.

ب) GVHD هنگامی رخ می دهد که بافت یا عضو پیوندی حاوی سلول های صلاحیت دار ایمنی بوده و سیستم ایمنی میزبان نیز سرکوب شده باشد.

پ) عضو یا بافت پیوندی را می توان با آنتی بادی های منوکلونال ضد CD3، CD4 یا IL-2R با میل پیوندی بالا مجاور نمود تا سلول های T_H آن تخلیه گردند. استفاده از anti CD3 موجب تخلیه تمام سلول های T شده، آنتی بادی ضد CD4 سلول های T_H و آنتی بادی ضد IL-2R تنها سلول های T_H فعال شده را تخلیه می کند.

۵-الف) خواهر یا برادر C بر مبنای سازگار بودن ABO و تمامی آنتی ژن های MHC-I مناسبترین دهنده به شمار می رود.

ب) خواهر یا برادر A به دلیل پاسخ ضعیف تکثیری در MLR یک طرفه، بهترین دهنده می باشد. این نتایج نشان می دهند که آنتی ژن های MHC-II با آنتی ژن‌های گیرنده سازگارند. با این آزمایش ها خواهر یا برادر A به عنوان دهنده انتخاب می‌شود، زیرا آنتی ژن های MHC-II در تعیین پس زدن پیوند از اهمیت بالایی برخوردارند.

۶-استفاده از CTLA-4 محلول یا آنتی بادی ضد CD40-L جهت افزایش قبول پیوند بر مبنای نیاز سلول های T به پیام های کمک تحریکی استوار می باشد. حتی در صورت شناسایی پیوند به عنوان بیگانه توسط سلول T، حضور CTLA-4 یا آنتی بادی ضد CD40-L از فعال شدن سلول های T جلوگیری می کند. زیرا این سلول پیام ثانویه را از طریق پذیرنده های CD40 یا CD28 دریافت نمی کند و به جای فعال شدن، آنرژیک می شود. مزیت استفاده از این مواد، مهار انتخابی سلول های T

www.bbooks.ir

دخیل در واکنش علیه پیوند می باشد. روش های عمومی تـر سـرکوب ایمنـی مثـل FK506 و CsA موجب نقص ایمنی و استعداد ابتلا به عفونت متعاقب آن می گردد.

۷-آزاتیوپرین یک مهارکننده میتوز بوده که جهت مهار تکثیر سلول هـای T اختصاصـی پیوند به کار می رود. CsA و FK506 با تداخل در مسیر انتقال پیامی که به تشـکیل فاکتور نسخه برداری NFAT مـی انجامـد، از فعـال شـدن سـلول هـای T در حـال استراحت جلوگیری می کنند. راپامایسین با متوقف کردن چرخه سلولی از فعال شدن سلول های T_H جلوگیری می کند.

فصل هجدهم

۱-الف) بدلیل این که سلول های عفونی شده مولکول های MHC $H\text{-}2^K$ را عرضه کـرده ولی سلول های T محدود به $H\text{-}2^b$ هستند.

ب) بدلیل این که نوکلئوپروتئین های آنفولانزا توسط مسیر داخلـی پـردازش شـده و پپتیدهای حاصل توسط مولکول های MHC-I عرضه می شوند.

پ) ممکن است به دلیل این باشد که مولکول های انتقالی کلاس یک $D\text{-}^d$ تنها قادر به عرضه پپتید ۳۸۰-۳۶۵ و نه پپتید ۶۳-۵۰ می باشند.

ت) این یافته ها پیشنهاد می کنند که مخلوطی از چندین پپتیـد ایمنـی زا بـا احتمـال بیشتری توسط هاپلوتایپ های متفاوت MHC عرضه شده و واکسن هـای مناسـبی را برای انسان فراهم می کنند.

۲-دفاع غیر اختصاصی در انسان شامل سلول های مژک دار اپی تلیال، مواد ضدمیکربی ترشحات مخاطی، محصولات تولید شده از مسیر آلترنـاتیو کمپلمـان کـه بـه عنـوان اپسونین و عوامل کموتاکتیک عمل می کنند و سلول های بیگانه خوار می باشند.

۳-دفاع اختصاصی میزبـان شـامل IgA ترشـحی در مخـاط، IgG و IgM در مایعـات بافتی، مسیر کلاسیک کمپلمان و محصولات ناشی از تجزیـه آن، اپسـونین هـا (IgG، IgM و C3b) و سلول های بیگانه خوار می باشند. سایتوکاین های تولیـد شـده طـی

www.bbooks.ir

پاسخ هـای اختصاصـی مثـل IFN-γ، TNF، IL-1 و IL-6 در پاسـخ هـای التهـابی دخالت دارند.

۴-آنتی بادی ها که طی چندین روز پس از عفونـت بـه حـداکثر خـود مـی رسـند بـه گلیکوپروتئین HA آنفولانزا اتصال یافته و از عفونت ویروسی سلول هـای اپـی تلیـال ممانعت به عمل می آورند. به دلیل این که آنتی بادی، اختصاصی سـویه مـی باشـد، نقش اصلی آن محافظت در برابر عفونت مجدد با همان سویه می باشد.

۵-الف) تریپانوزوم های آفریقایی قادر به تغییر آنتی ژنی در VSG خود می باشند. ب) پلاسمودیوم با تغییرات بلوغی مداوم از اسپوروزوئیت به مروزوئیـت و گامتوسـیت و تغییرات مداوم آنتی ژن های سطحی از دست سیستم ایمنی فرار می کند.

۶-الف) IA^b ب) به دلیل این که سلول های T_H منحصر به MHC ویـژه آنتـی ژن در فعال سازی سلول های B شرکت می کنند.

۷-الف) BCG ب) شیفت آنتی ژنی، دریفت آنتی ژنـی پ) توکسـوئید ت) IFN-α، IFN-γ ث) IL-12، IFN-γ

۸-اکثر عفونت هـای قـارچی در عمـوم جامعـه بـه بیمـاری شـدید منجـر نشـده و بـا مکانیسم‌های ایمنی ذاتی برطرف می شوند. عفونت های قـارچی مشـکل زا اکثـراً در افراد با ایمنی تضعیف شده مثل مبتلایان به ایدز یا درمان های سـرکوبگر ایمنـی بـه چشم می خورند.

۹-عامل اصلی گسترش سریع ویروس SARS مسـافرت هـای بـین المللـی بـود. ایـن بیماری توسط یک پزشک از چین به هنگ کنگ منتقل شـد و از آنجـا توسـط افـراد ساکن در همان هتل به مقاصد آنها انتقال یافت.

۱۰- الف) آنفولانزا در بیان سطحی نورآمینیداز و هماگلوتینین خود تغییر ایجاد می کند. ب) ویروس هرپس در سلول های عصبی به صورت خفته در مـی آیـد. پ) نیسـریا جهت شکستن IgA، پروتئاز ترشح مـی کنـد. ت) نادرسـت ث) تعـداد زیـادی از

www.bbooks.ir

باکتری های گرم مثبت در برابر لیز با واسطه کمپلمان مقاوم می باشند.ج) ویروس آنفولانزا هر ساله جهش هایی را کسب می کند.

۱۱-الف) خیر. سلول های T خودواکنشگر تها علیه عفونت های داخل سلولی فعال می‌شوند. گزینه های ب، پ و ت صحیح می باشند.

فصل نوزدهم

۱-الف) درست ب) درست پ) درست ت) نادرست. به دلیل این که واکسن های DNA منجر به برخورد طولانی مدت با آنتی ژن می گردند و احتمال دارد تا موجب شکل گیری خاطره ایمنی گردند. ث) یک واکسن DNA حاوی ژن کد کننده کل یک آنتی ژن پروتئینی بوده که احتمالاً حاوی چندین اپی توپ می باشد.

۲-به دلیل این که ارگانیسم های تضعیف شده قادر به رشد محدود در سلول های میزبان هستند، به واسطه مسیر سیتوزولی و همراه با MHC-I بر سطح سلول های عفونی عرضه می شوند. به همین دلیل این واکسن ها اغلب موجب القای پاسخ ایمنی سلولی می گردند. رشد محدود این ارگانیسم ها در داخل سلول های میزبان اغلب نیاز به دوزهای یادآور را مرتفع می سازد. همچنین درصورتی که ارگانیسم قادر به رشد در غشای مخاطی باشد، واکسن موجب تولید IgA ترشحی در مخاط می گردد. عیب اصلی واکسن های تضعیف شده کامل، امکان بازگشت آنها به شکل تهاجمی خود می باشد.

۳-الف) به منظور خنثی کردن سم تولید شده احتمالی توسط کلستریدیوم تتانی در زخم، ضدسم تجویز می شود. استفاده از ضدسم ضروری است، زیرا دختر قبلاً ایمن نشده و دارای آنتی بادی در گردش و سلول های B خاطره ای علیه توکسین کزاز نمی باشد. ب) به دلیل درمان با ضد سم، دختر در نتیجه عفونت اولیه با کزاز ایمن نخواهد شد و به همین دلیل پس از آسیب دوم در ۳ سال بعد او به یک دوز ضدسم دیگر نیاز

www.bbooks.ir

خواهد داشت. جهت ایجاد ایمنی طولانی مدت، ایمونیزاسیون با توکسوئید کزاز ضروری می باشد.

۴-واکسن سابین فلج اطفال، تضعیف شده می باشد در حالی که واکسن سالک، غیرفعال شده است. بنابراین، واکسن سابین نسبت به سالک دارای مزایای واکسن تضعیف شده نسبت به واکسن غیرفعال می باشد.

۵-سویه های ویروس به کار رفته جهت واکسن های استنشاقی، جهش یافته های حساس به حرارت بوده که قادر به رشد در دمای ۳۷ درجه بدن انسان نمی باشند. ویروس زنده ضعیف شده در مجاری تنفسی فوقانی رشد کرده و ایمنی ایجاد می کند ولی قادر به رشد در سیستم تنفسی تحتانی و ایجاد آنفولانزا نمی باشد.

۶-اپی توپ های سلول T عمدتاً پپتیدهای داخلی می باشند که معمولاً دارای نسبت‌های بالایی از اسیدآمینه های آبگریز هستند، در ظرف مقابل اپی توپ های سلول B بر سطح آنتی ژن واقع شده و در دسترس آنتی بادی می باشند که حاوی نسبت های بالایی از اسیدآمینه های آبدوست می باشند.

۷-وقتی اکثریت یک جمعیت در برابر یک آنتی ژن خاص ایمن می باشند، احتمال برخورد افراد معدودی از این جامعه که به آن آنتی ژن حساس می باشند با فرد مبتلا بسیار کم است. در صورتی که تعداد افراد ایمن شده کاهش یابد که معمولاً به دلیل کاهش میزان واکسیناسیون می باشد، دیگر ایمنی جمعی از افراد مستعد محافظت به عمل نمی آورد و عفونت می تواند به سرعت گسترش یافته و به اپیدمی منجر گردد.

۸-واکسن های DNA توانایی بیشتری در تحریک هر دو بازوی سلولی و هومورال ایمنی نسبت به واکسن های پروتئینی دارند و ایمنی کاملتری ایجاد می کنند. جهت انتخاب باید این واقعیت را نیز در نظر داشت که واکسن های پروتئینی نوترکیب کاربرد

www.bbooks.ir

گسترده داشته در حالی که کاربرد انسانی واکسن های DNA هنوز در مراحل ابتدایی قرار دارد.

۹-پاتوژن هایی که دارای دوره کمون کوتاه می باشند قبل از القای پاسخ سلول خاطره منجر به علائم بیماری می شوند. محافظت علیه چنین پاتوژن هایی با ایمونیزاسیون‌های تکراری حاصل می گردد که منجر به حفظ سطوح آنتی بادی خنثی کننده می شود. برای پاتوژن هایی با دوره کمون طولانی تر، پاسخ ایمنی خاطره ای به اندازه کافی سریع بوده تا از شکل گیری علائم جلوگیری کند.

۱۰-پلی ساکارید های کپسول باکتریایی، اندوتوکسین های غیر فعال شده و آنتی ژن‌های پروتئینی سطحی. دو مورد اخیر توسط فناوری DNA نوترکیب حاصل می شوند. علاوه بر آن، مولکول های DNA جهت سنتز مستقیم آنتی ژن ها جهت ایمنی زایی نیز به کار رفته اند.

۱۱- آنتی بادی های بکار رفته در ایمونیزاسیون غیر فعال به پذیرنده های Fc سلول‌های B مادری متصل شده و سلول های Rh^+ B را از فعال شدن و تولید آنتی بادی علیه جنین باز می دارند. در این روش، واکسیناسیون نوزاد را از حمله توسط سیستم ایمنی مادر محافظت می کند.

۱۲-امکان از دست رفتن ایمنی جمعی وجود دارد. حتی در یک جمعیت واکسینه شده از کودکان، درصد کمی به دلیل بیان متفاوت مولکول های MHC، در برابر بیماری مورد نظر ایمنی کسب نمی کنند که منجر به شکل گیری مخزنی از بیماری می شود. علاوه بر آن اکثر افراد واکسینه شده در صورت برخورد با افراد واکسینه نشده ممکن است به یک بیماری خفیف دچار شوند. برخورد افراد واکسینه نشده با منبع بیماری، آنها را در خطر بیماری جدی قرار می دهد. اپیدمی در افراد بالغ عواقب شدیدی در پی خواهد داشت و میزان مرگ و میر نوزادان در اثر این بیماری ها افزایش خواهد یافت.

www.bbooks.ir

۱۳- الف) ۱ یا ۲ ب)۲ پ)۳ ت)۴ ث)۱ ج)۲ چ)۲

فصل بیستم

۱-الف) درست ب) نادرست. XLA با کاهش سلول های B و فقدان ایمونوگلبولین مشخص می شود. پ) نادرست. نقص فاگوسیتی منجر به عفونت های راجعه باکتریایی و قارچی می شود. ت) درست. ث) درست. ج) درست. چ) درست. ح) درست. خ) نادرست. این کودکان اغلب قادر به حذف باکتری های کپسول دار به واسطه آنتی بادی و کمپلمان بوده ولی به عفونت با پاتوژن های داخل سلولی، قارچی، تک یاخته‌ای و ویروسی مستعذ می باشند. د) نادرست. ایمنی هومورال نیز تحت تأثیر قرار می گیرد زیرا سلول های T_H منحصر به MHC-II نیز جهت پاسخ آنتی بادی می بایست فعال شوند.

۲-الف)۳ ب)۴ پ)۳ ت)۵ ث)۱ ج)۲

۳-نقص در سندرم هایپر IgM وابسته به جنس مربوط به CD40L عرضه شده روی سلول های B می باشد. در فقدان این مولکول، تعویض رده صورت نگرفته و سلول‌های B قادر به بیان سایر ایزوتایپ های آنتی بادی بر سطح خود نمی باشند.

۴-تیموس جایگاه تمایز و بلوغ سلول های T_H و CTL می باشد. در این عضو، گزینش مثبت و منفی نیز صورت می پذیرد. بنابراین تیموسیت های تولید شده توسط مغز استخوان در بیماران مبتلا به سندروم دی جرج توانایی بالغ شدن به انواع سلول های اجرایی را ندارند.

۵-الف) LAD از نقص در تولید زنجیره β در LFA-1، CR3 و CR4 که همگی در این زنجیره مشترک می باشند ایجاد می شود. ب) LFA-1 با اتصال به ICAM-1 که بر روی بسیاری از سلول ها بیان می شود در چسبندگی سلولی نقش دارد. این اتصال در میانکنش های سلولی T_H با B و CTL با سلول هدف و همچنین لکوسیت های در حال گردش و اندوتلیوم عروقی دخالت دارد.

www.bbooks.ir

۶-الف) ژن های بازآرایی شده زنجیره سنگین در موش های SCID فاقد قطعات ژنی D و/یا J می باشند. ب)بر اساس مدل حذف آللی، بازآرایی ژن زنجیره سنگین دارای محصول می بایست قبل از بازآرایی زنجیره سبک κ رخ دهد. به همین دلیل در موش های SCID که فاقد ژن محصول دار زنجیره سنگین می باشند، بازآرایی زنجیره سبک κ صورت نمی پذیرد. پ) بله

۷-الف)۴ ب)۳ پ)۲ ت)۱ ث)۸ ج)۶ چ)۵ ح)۷

۸-الف) نادرست. HIV-2 و SIV بیشتر به هم نزدیکند. ب) نادرست. HIV-1 در شامپانزه ها عفونت ایجاد می کند ولی منجر به سرکوب ایمنی نمی گردد. پ) درست ت) نادرست. زیدوودین در مرحله نسخه برداری معکوس ژنوم ویروس عمل کرده در حالی که ایندیناویر مهارکننده پروتئاز ویروسی می باشد. ث)درست. ج) مبتلایان به مراحل پیشرفته ایدز گاهی اوقات فاقد آنتی بادی ضد HIV قابل تشخیص در سرم می باشند. چ) PCR موجب شناسایی DNA پروویروس HIV در سلول های عفونی نهفته می گردد. ح) درست.

۹-دلیل اصلی تخلیه سلول های T در ایدز آثار سایتوپاتیک عفونت HIV می باشد. در صورت کاهش سطوح ویروس در گردش به واسطه درمان های ضدویروس، تعداد سلول های T افزایش خواهد یافت.

۱۰-خیر. در مرحله مزمن عفونت HIV، تکثیر ویروس و تعداد سلول های $CD4^+$ T در یک تعادل دینامیک قرار دارند و سطح ویروس نسبتاً ثابت می ماند.

۱۱- افزایش در میزان سطح ویروس و کاهش سلول های $CD4^+$ T نشان دهنده پیشرفت عفونت HIV از مرحله مزمن به فاز ایدز می باشد.

۱۲- جهت پایش فعالیت سلول های T_H از پاسخ دهی به آزمون های پوستی استفاده می‌شود. با پیشرفت ایدز، واکنش پذیری تست های پوستی نسبت به آنتی ژن های معمول کاهش می یابد.

www.bbooks.ir

۱۳-پذیرنده های کموکاین های خاصی مثل CXCR4 و CCR5 نیز به عنوان پذیرنده HIV-1 عمل می کنند. کموکاین ها که لیگاند طبیعی این پذیرنده ها می باشند در اتصال به پذیرنده با ویروس رقابت کرده و در نتیجه با مهار اتصال ویروس از عفونت سلول جلوگیری می کنند.

۱۴-خیر

۱۵- بیمار LS با تعریف ایدز مطابق بوده در حالی که بیمار BW این طور نمی باشد. تشخیص بالینی ایدز در بین افراد آلوده با HIV بر پایه تعداد سلول های T و همچنین حضور نشانه های متعدد بیماری می باشد.

فصل بیست و یکم

۱-الف) نادرست، رتینوبلاستومای ارثی در اثر غیرفعال شدن هر دو آلل Rb که یک ژن سرکوبگر تومور می باشد، به وجود می آید. ب)درست پ)درست ت)درست ج)درست

۲-سلول های pre-B دارای ژن های بازآرایی شده زنجیره سنگین بوده و زنجیره μ سیتوپلاسمی را عرضه می کنند. می بایست با استفاده از پروب Cμ لکه گذاری ساترن انجام گیرد یا این که با استفاده از آنتی بادی اختصاصی ضد μ، رنگ آمیزی فلورسنت انجام شود.

۳-الف) به نظر می رسد سلول های اولیه ی ملانوما به عنوان APC عمل می کنند و آنتی ژن را از مسیر خارجی پردازش کرده و توکسوئید کزاز را همراه HLA-DR عرضه می کنند.

ب) سلول های ملانوما در مرحله ی پیشرفته در بیان MHC-II از خود کاهش نشان داده و یا قادر به داخل کشیدن و پردازش آنتی ژن از مسیر خارجی نمی باشند.

www.bbooks.ir

پ) از آنجایی که سلول های ابتدایی ملانوما که با پارافرمالدئید ثابت شده اند، قادر به عرضه توکسوئید پردازش شده ی کزاز هستند، آنها می بایست مولکول های MHC-II را بر سطح خود عرضه کرده باشند.

۴-آنتی ژن های تومور ممکن است تنها توسط ژن های خود تومور کد شوند، ممکن است محصولات ناشی از بیان بیش از حد ژن های تومور یا ژن هایی که در مراحل خاصی از تکامل به صورت طبیعی بیان می شوند باشند و یا ممکن است محصولات ژن های طبیعی باشند که در اثر جهش تغییر کرده اند.

۵-IFN-α، IFN-β و IFN-γ بیان MHC-I را بر سطح سلول های توموری و در نتیجه پاسخ CTL به آنها را افزایش می دهند. IFN-γ همچنین موجب افزایش فعالیت CTLها، ماکروفاژها و سلول های NK می شود که هر کدام از آنها نقش مهمی در پاسخ به تومور ایفا می کنند. TNF-α و TNF-β فعالیت مستقیم ضد توموری مثل نکروز هموراژیک و تحلیل تومور دارند. IL-2 سلول های LAK و TIL را فعال کرده که هر دو فعالیت ضد توموری دارند.

۶-الف) سلول های ملانوما که ژن B7 را دریافت کرده باشند قادر به تحویل پیام کمک تحریکی لازم جهت تبدیل شدن پیش ساز های CTL به CTLهای اجرایی می‌باشند. ژن های انتقالی GM-CSF به سلول های ملانوما موجب ترشح این سایتوکاین و تحریک فعالیت و تمایز APCها می شود.

۷-الف) نئوپلاسم

ب) کارسینوم

پ) سارکوم

ت) بدخیم

ث) متاستاز

ج) خوش خیم

www.bbooks.ir

چ) لنفوم

ح) ترانسفورماسیون

خ) لوسمی

www.bbooks.ir

- Abbas, A., K.M.Murphy, and A. Sher. 1996. *Functional diversity of helper T lymphocytes. Nature* 383:787.
- Adams, D. H. 2000. *Cardiac xenotransplantation: clinical experience and future direction. Ann. Thoracic Surg*. 70:320.
- Afzal,M. F., et al. 2000. *Clinical safety issues of measles, mumps, and rubella vaccines. WHO Bull*. 78:199.
- Ahearn, J. M., and D. T. Fearon. 1989. *Structure and function of the complement receptors CR1 (CD35) and CR2 (CD21). Adv. Immunol*. 46:183.
- Aisenberg, A. C. 1993. *Utility of gene rearrangements in lymphoid malignancies. Annu. Rev.Med*. 44:75.
- Akira, S., K. Takeda, and T. Kaisho. 2001. Toll-like receptors: Critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature Immunol.* **2:**675.
- Alcami, A., and U. H. Koszinowski. 2000 *Viral mechanisms of immune evasion. Trends Microbiol*. 8:410.
- Alcami, A., and U. H. Koszinowski. 2000. *Viral mechanisms of immune evasion. Immunol. Today* 9:447–455.
- Alfonso, C., and L. Karlsson. 2000. *Nonclassical class II molecules. Ann. Rev. Immunol*. 18:113.
- *Alizadeh A. A., et al. 2000. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature* 2000 403:503-11.
- Allison, J. P.,A.A.Hurwitz, and D. R. Leach. 1995. *Manipulation of costimulatory signals to enhance antitumor T-cell responses. Curr. Opin. Immunol*. 7:682.
- Allison, T. J., et al. 2001. *Structure of a human γδ T-cell antigen receptor. Nature* 411:820.
- Ansari, A. A., et al. 1989. *Human immune responsiveness to Lolium perenne pollen allergen Lol p III (rye III) is associated with HLA-DR3 and DR5. Hum. Immunol*. 25:59.
- Appelbaum, F. R. 1996. *Hematopoietic stem cell transplantation. In Scientific American Medicine*. D. Dale and D. Federman, eds. Scientific American Publishers, New York.
- Ashton-Rickardt, P. G., A. Bandeira, J. R. Delaney, L. Van Kaer, H. P. Pircher, R. M. Zinkernagel, and S. Tonegawa. 1994. *Evidence for a*

www.bbooks.ir

differential avidity model of T-cell selection in the thymus. Cell 74:577.

- Aubry, J. P., et al. 1992. *CD21 is a ligand for CD23 and regulates IgE production. Nature* 358:505.
- Auchincloss, H., M. Sykes, and D. H. Sachs. 1999. *Transplantation immunology, in Fundamental Immunology, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia*. p. 1175.
- Bach, E. A., M. Aguet, and R. D. Schreiber. 1998. *The IFN-γ receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. Ann. Rev. Immunol*. 15:563.
- Banchereau J., F. Briere, C. Caux, J. Davoust, S. Lebecque, Y. J. Liu, B. Pulendran, and K. Palucka. 2000. *Immunobiology of dendritic cells.Annu. Rev. Immunology*. 18:767.
- Barnes,K.C., and D. G.Marsh. 1998. *The genetics and complexity of allergy and asthma. Immunol. Today* 19:325.
- Baselga J., et al. 1996. *Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with her2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. Journal of Clinical Oncology* 14:737.
- Bell, J. 1989. *The polymerase chain reaction. Immunol. Today* 10:351.
- Bendelac, A., M. N. Rivera, S-H. Park and J. H. Roark. 1997. *Mouse CD1-specific NK1 T cells: Development, specificity and function.Annu. Rev. Immunol.* 15:535.
- Benoist, C., and D. Matis. 2001. *Autoimmunity provoked by infection: how good is the case for T cell epitope mimicry? Nat Immunol*. 2:797.
- Benschop, R. J., and J. C. Cambier. 1999. *B-cell development: signal transduction by antigen receptors and their surrogates. Curr. Opin. Immunol*. 11:143.
- Berek, C. 1999. *Affinity Maturation. In Fundamental Immunology*, 4th ed., edited by W. E. Paul. Lippincott-Raven, Philadelphia and New York.
- Berger, E.A. et al. 1999. *Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: role in viral entry, tropism, and disease. Ann. Rev. Immunol*. 17:657.
- Berland, R. and H. H. Wortis. 2002. *Origins and functions of B-1 cells with notes on the role of cd5. Annu. Rev. Immunol*. 20:253.

www.bbooks.ir

- Berzofsky, J. A., and J. J. Berkower. 1999. *Immunogenicity and antigen structure. In Fundamental Immunology*, 4th ed., W. E. Paul, ed., Lippincott-Raven, Philadelphia.Brown, J. H., et al. 1993. *Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. Nature* 364:33.
- Berzofsky, J. A., I. J. Berkower, and S. L. Epstein. 1991. *Antigen-antibody interactions and monoclonal antibodies. In Fundamental Immunology*, 3rd ed.,W. E. Paul, ed. Raven Press, New York.
- Betz, U. A. K., et al. 1996. *Bypass of lethality with mosaic mice generated by Cre-loxP-mediated recombination. Current Biology* 6:1307.
- Biron, C. A. 2001. *Interferons alpha and beta as immune regulators-a new look. Immunity* 14:661.
- Bloom, B. R. 1998. *The highest attainable standard: ethical issues in AIDS vaccines. Science* 279:186.
- Bloom, B. R., and C. J. L.Murray. 1992. Tuberculosis: *commentary on a reemergent killer. Science* 257:1055.
- Bonnefoy, J. Y., et al. 1993. *A new pair of surface molecules involved in human IgE regulation. Immunol. Today* 14:1.
- Boon, T., P, G. Coulie, and B. Van den Eynde. 1997. *Tumor antigens recognized by T cells. Immunol Today*. 18:267.
- Borish, L. 1999. *Genetics of allergy and asthma. Ann. Allergy Asthma Immunol*. 82:413.
- Borst, P., et al. 1998.*Control of VSG gene expression sites in Trypanosoma brucei.Mol. Biochem. Parasitol*. 91:67.
- Brodsky, F. M., et al. 1999. *Human pathogen subversion of antigen presentation. Immunol. Reviews*. 168:199.
- Bruton, O. C. 1952. *Agammaglobulinemia. Pediatrics* 9:722.
- Buckley, R. H., 2000. *Primary immunodeficiency diseases due to defects in lymphocytes. N. Eng. J.Med*. 343:1313.
- Burnet, F. M. 1959. *The Clonal Selection Theory of Acquired Immunity.*Cambridge University Press, Cambridge.
- Busch, R., et al. 2000. *Accessory molecules for MHC class II peptide loading. Curr. Opinion in Immunol.* 12:99.

www.bbooks.ir

- Busse,W., and W. Neaville. 2001. *Anti-immunoglobulin E for the treatment of allergic disease. Curr. Opin. in Allergy & Immunol*. 1:105.
- Butcher, E., and L. J. Picker. 1996. *Lymphocyte homing and homeostasis. Science* 272:60.
- Camper, S. A. 1987. *Research applications of transgenic mice. Biotechniques* 5:638.
- Capecchi, M. R. 1989. *Altering the genome by homologous recombination. Science* 244:1288.
- Carpenter, C. J. et al. 2000. *Antiretroviral therapy in adults. Updated recommendations of the International AIDS Society-USA Panel*. JAMA 283:381.
- Carroll, M. C. 2000. *The role of complement in B-cell activation and tolerance. Adv. Immunol*. 74:61.
- Chang, T.W. 2000. *The pharmacological basis of anti-IgE therapy. Nat. Biotech*. 18:157.
- Charlton, B., and K. J. Lafferty. 1995. *The TH1/TH2 balance in autoimmunity. Curr. Opin. Immunol*. 7:793.
- Chen, J., Y. Shinkai, F. Young, and F. W. Alt. 1994. *Probing immune functions in RAG-deficient mice. Curr. Opin. Immunol.* 6:313.
- Clevers, H. C., and R. Grosschedl. 1996. Transcriptional control of lymphoid development: lessons from gene targeting. Immunol. Today 17:336.
- Cohen, S. G., and M. Samter. 1992. *Excerpts from Classics in Allergy.*Symposia Foundation, Carlsbad, California.
- Cohen,O. J. and A. S. Fauci. 2001. *Current strategies in the treatment of HIV infection. Adv. in Int.Med*. 46:207.
- Coligan, J. E., A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, and W. Strober. 1997. *Current Protocols in Immunology*.Wiley, New York.
- Cook, G. P., and I. M. Tomlinson. 1995. *The human immunoglobulin VH repertoire. Immunol. Today* 16:237.
- Cory, S. 1995. *Regulation of lymphocyte survival by the BCL-2 gene family.Annu. Rev. Immunol*. 12:513.
- cott, A. M., and S.Welt. 1997. *Antibody-based immunological therapies. Curr. Opin. Immunol*. 9:717.

www.bbooks.ir

- Coulie, P. G., et al. 1994. *A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. J. Exp.Med*. 180:35.
- Cournoyer, D., and C. T. Caskey. 1993. *Gene therapy of the immune system. Annu. Rev. Immunol*. 11:297.
- Cox, F. E. 1997. *Designer vaccines for parasitic diseases. Int. J. Parasitol*. 27:1147.
- Dale, D., and D. Federman, eds. 1997. *Drug allergy. In Scientific American Medicine.Chapter VIII,Hypersensitivity and allergy*, p. 27.
- Darnell, J. E. Jr. 1997. *STATs and gene regulation. Science* 5332:1630–1635.
- Daser, A., et al. 1995. *Role and modulation of T-cell cytokines in allergy. Curr. Opin. Immunol*. 7:762.
- Demotz, S., H. M. Grey, E. Appella, and A. Sette. 1989. *Characterization of a naturally processed MHC class II-restricted T-cell determinant of hen egg lysozyme. Nature* 342:682.
- Denis, K. A., and O. N. Witte. 1989. *Long-term lymphoid cultures in the study of B cell differentiation. In Immunoglobulin Genes. Academic Press*, p. 45.
- Depamphilis, M. L., et al. 1988. *Microinjecting DNA into mouse ova to study DNA replication and gene expression and to produce transgenic animals. Biotechniques* 6(7):622.
- Desour, L. 1922. *Pasteur and His Work* (translated by A. F. and B. H.Wedd). T. Fisher Unwin Ltd., London.
- DeVita, V. T., S. Hellman, and S. A. Rosenberg. 1997. *Cancer Principles & Practice of Oncology, 5th ed*., Lippincott Williams & Wilkins.
- DiTommaso,A., et al. 1997. *Acellular pertussis vaccines containing genetically detoxified pertussis toxin induce long-lasting humoral and cellular responses in adults. Vaccine* 15:1218.
- Dittmann, S., 2000. *Sucessful control of epidemic diphtheria in the states of the former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. J. Inf. Dis*. 181 (Suppl. 1):S10.
- Doherty, P. C. 1997. *Effector CD4+ and CD8+ T-cell mechanisms in the control of respiratory virus infections. Immunol. Rev.* 159:105.

www.bbooks.ir

- Doherty, P. C., and R. M. Zinkernagel. 1975. *H-2 compatibility is required for T-cell mediated lysis of target cells infected with lymphocytic choriomeningitis virus. J. Exp.Med.* 141:502.
- Doms,R.W., and J. P.Moore. 1997. *HIV-1 coreceptor use: a molecular window into viral tropism. pp. III-25–36. In B. T. M. Korber et al., eds., HIV Molecular Immunology Database 1997. Theoretical Biology and Biophysics, Los Alamos National Laboratories*. Los Alamos, NM.
- Drakesmith, H., and A. Townsend. 2000. *The structure and function of HFE. BioEssays*. 22:595.
- Drappa, M. D., A. K. Vaishnaw, K. E. Sullivan, B. S. Chu, and K. B. Elkon. 1996. *Fas gene mutations in the Canale-Smith syndrome, an inherited lymphoproliferative disorder associated with autoimmunity. New England Journal of Medicine* 335:1643.
- Dreyer,W. J., and J. C. Bennett. 1965. *The molecular basis of antibody formation. Proc. Natl. Acad. Sci*. U.S.A. 54:864.
- Dutton, R.W., L. M. Bradley, and S. L. Swain. 1998. *T-cell memory. Annu. Rev. Immunol.* 16:201.
- Ellmeier,W., S. Sawada, and D. R. Littman. 1999. *The regulation of CD4 and CD8 coreceptor gene expression during T-cell development. Annu. Rev. Immunol*. 17:523.
- Erikson, J., et al. 1998. *Self-reactive B cells in nonautoimmune and autoimmune mice. Immunol. Res*. 17:49.
- Fahrer, A. M., et al. 2001. *A genomic view of immunology. Nature* 409:836.
- Fauci, A. S. 1996. *An HIV vaccine: breaking the paradigms. Proc. Assoc. Am. Phys*. 108:6.
- Finkelman, F.D., et al. 1988. *IL-4 is required to generate and sustain in vivo IgE response. J. Immunol*. 141:2335.
- Finkelman, F.D., et al. 1997. *Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models. Annu. Rev. Immunol*. 15:505.
- Fischer, A. 2001. *Primary immunodeficiency diseases: an experimental model for molecular medicine. The Lancet* 357:1863.

www.bbooks.ir

- FitzGerald, G. A., and C. Patrono. 2002. *The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. New England Journal of Medicine* 345:433.
- Fitzgerald,K.A., et al. 2001. *The Cytokine Facts Book, second edition. Academic Press*.
- Flynn, J. L., and J. Chan. 2001. *Immunology of tuberculosis. Annu. Rev. Immunol*. 19:93–129.
- Fox, A., and L. C. Harrison. 2000. *Innate immunity and graft rejection. Immunol. Rev*. 173:141.
- Frazer, J. K., and J. D. Capra. 1999. *Immunoglobulins: structure and function. In Fundamental Immunology*, 4th ed.W. E. Paul, ed. Philadelphia, Lippincott-Raven.
- Fritig, B., T.Heitz, and M. Legrand. 1998. Antimicrobial proteins in induced plant defense. *Curr. Opin. Immunol.* **10:**12.
- Fugmann, S. D., I. L. Lee, P. E. Shockett, I. J. Villey, and D. G. Schatz. 2000. *The RAG proteins and V(D)J recombination: Complexes, ends and transposition. Annu. Rev. Immunol.* 18:495.
- Gabay, C., and I. Kushner. 1999. *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation.N. Engl. J. Med*. 340:448.
- Gadina,M., et al. 2001. *Signaling by type I and II cytokine receptors: ten years after. Curr. Opin. Imm*unol. 3:363–373.
- Gadola, S. D., et al. 2000. *TAP deficiency syndrome. Clin. Exp. Immunol*. 121:173.
- Ganz, T., and R. I. Lehrer. 1998. *Antimicrobial peptides of vertebrates. Curr. Opin. Immunol.* 10:41.
- Gao, G. F., et al. 1997. *Crystal structure of the complex between human CD8 αα and HLA-A2. Nature* 387:630.
- Garboczi, D. N., et al. 1996. *Structure of the complex between human T-cell receptor, viral peptide, and HLA-A2. Nature* 384:134.
- Garcia, K. C., et al. 1996. *An αβ T-cell receptor structure at 2.5 Å and its orientation in the TCR-MHC complex. Science* 274:209.
- Garcia, K. C., et al. 1998. *T-cell receptor–peptide–MHC interactions: biological lessons from structural studies.Curr.Opinions in Biotech*. 9:338.
- Gavilondo, J.V., and J.W. Larrick. 2000.*Antibody engineering at the millennium. Biotechniques* 29:128.

www.bbooks.ir

- Ghosh P., M. Amaya, E. Mellins, and D. C. Wiley. 1995. *The structure of an intermediate in class II MHC maturation: CLIP bound to HLA-DR3. Nature* 378:457.
- Good,M. F. 2001. *Towards a blood-stage vaccine for malaria: are we following all the leads? Nature Rev Immunol*. 1:117–125.
- Graham, B. 2000. *Clinical trials of HIV vaccines. In Human retroviruses and AIDS.* Edited by C. Kuiken et al. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, NM.
- Grandi, G. 2001. *Antibacterial design using genomics and proteomics. Trends in Biotech*. 19:181.
- Grey,H. M., A. Sette, and S. Buus. 1989. *How T cells see antigen. Sci. Am*. 261(5):56.
- Grover, F. L., et al. 1997. *The past, present, and future of lung transplantation.Am. J. Surg*. 173:523.
- Guay, L. A., et al. 1999. *Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared to zidovudine for prevention of motherto- child transmission of HIV-1 in Kampala,Uganda:HIVNET 012 randomized trial. The Lancet* 354:795.
- Gurunathan, S., et al. 2000. *DNA vaccines: immunology, application and optimization. Ann. Rev. Immunol*. 18:927.
- Haddad, E., et al. 1995. *Treatment of Chediak-Higashi syndrome by allogenic bone marrow transplantation: report of 10 cases. Blood* 11:3328.
- Hardy, R. R., and K. Hayakawa. 2001. *B-cell development pathways. Annu. Rev. Immunol*. 19:595.
- Harlan,D.M., and A.D. Kirk. 1999. *The future of organ and tissue transplantation: can T-cell co-stimulatory pathway modifiers revolutionize the prevention of graft rejection? JAMA* 282:1076.
- Harlow, E., and D. Lane. 1999. *Using Antibodies: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Hausmann, S., and K. W. Wucherpfennig. 1997. *Activation of autoreactive T cells by peptides from human pathogens. Curr. Opin. Immunol*. 9:831.
- Hayday, A. 2000. *γδ Cells: A right time and a right place for a conserved third way of protection. Ann. Rev. Immunol.* 18:1975.

www.bbooks.ir

- Hayden,M. S., L. K. Gilliand, and J. A. Ledbetter. 1997. *Antibody engineering. Curr. Opin. Immunol.* 9:201.
- Henderson, D. A. 1976. *The eradication of smallpox. Sci. Am*. 235:25.
- Hennecke J., and D. C.Wiley 2001. *T-cell receptor–MHC interactions up close. Cell* 104:1.
- Herman, A., J. W. Kappler, P. Marrack, and A. M. Pullen. 1991. *Superantigens: mechanism of T-cell stimulation and role in immune responses.Annu. Rev. Immunol*. 9:745.
- Herzenberg, L. A., ed. 1996. *Weir's Handbook of Experimental Immunology*, 5th ed.Oxford, Blackwell Scientific Publications.
- Hesslein, D. G., and D. G. Schatz. 2001. *Factors and forces controlling V(D)J recombination. Adv. Immunol*. 78:169.
- Hirose, R., and F. Vincenti. *Review of transplantation—1999. Clin. Transplants* 1999:295.
- Hollingdale, M. R., et al. 1998. *Biology of malarial liver stages: implications for vaccine design. Ann. Trop. Med. Parasitol*. 92:411.
- Holt, P. G. 1994. *Immunoprophylaxis of atopy: light at the end of the tunnel? Immunol. Today* 15:484.
- Hong J. C., and B. D. Kahan. 2000. *Immunosuppressive agents in transplantation: past, present, and future. Sem. Nephrol*. 20: 108.
- Horwitz,M. S., et al. 1998. *Diabetes induced by Coxsackie virus: initiation by bystander damage and not molecular mimicry. Nature Med*. 4:781.
- Houghton, A. N., J. S. Gold, and N. E. Blachere. 2001. *Immunity against cancer: lessons learned from melanoma. Curr. Opin. Immunol*. 13:134.
- Hoyne, G. F., et al. 1995. *Peptide modulation of allergen-specific immune responses. Curr. Opin. Immunol*. 7:757.
- Hozumi, N., and S. Tonegawa. 1976. *Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. Proc. Natl. Acad. Sci.* U.S.A. 73:3628.
- Hsu, F. J., et al. 1997. *Tumor-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-cell lymphoma. Blood*. 89:3129.
- *Immunology Today, The Immune Receptor Supplement*, 2nd ed. 1997. Elsevier Trends Journals, Cambridge, UK (ISSN 1365-1218).

www.bbooks.ir

- International Human Genome Sequencing Consortium. 2001. *Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature* 409:860.
- Jacob, J., G. Kelsoe, K. Rajewsky, and U.Weiss. 1991. *Intraclonal generation of antibody mutants in germinal centres. Nature* 354:389.
- Jaeckel, E., et al. 2001. *Treatment of acute hepatitis C with interferon α-2b. N. Engl. J .Med*. 345:1452–1457.
- Jayawardena-Wolf, J., and A. Bendelac. 2001. *CD1 and lipid antigens: intracellular pathways for antigen presentation. Curr. Opinions in Immunol*. 13:109.
- Kabelitz, D., et al. 2000. *Antigen recognition by γδ T lymphocytes.Int. Arch. Allergy Immunol*. 122:1.
- Kagi, D., et al. 1994. *Fas and perforin as major mechanisms of T-cell–mediated cytotoxicity. Science* 265:528.
- Kaufmann, S. H. 2001. *How can immunology contribute to the control of tuberculosis? Nature Rev. Immunol*. 1:20–30.
- Kimbrell, D. A., and B. Beutler. 2001. The evolution and genetics of innate immunity. *Nature Rev. Genet.* **2:**256.
- Kindt, T. J., and J. D. Capra. 1984. *The Antibody Enigma.*Plenum Press, New York.
- King,C., and N. Sarvetnick. 1997. *Organ specific autoimmunity. Curr. Opin. Immunol*. 9:863.
- Kinter, A., et al. 2000. *Chemokines, cytokines, and HIV: a complex network of interactions that influence HIV pathogenesis. Immunol. Rev*. 177:88.
- Kirk, A. D., et al. 1997. *CTLA4-Ig and anti-CD40 ligand prevent renal allograft rejection in primates. Proc. Natl. Acad. Sci*. USA 94:8789.
- Klenerman, P., et al. 2002. *Tracking T cells with tetramers: new tales from new tools. Nature Reviews Immunology* 2:263.
- Knodler, L. A., J. Celli, and B. B. Finlay. 2001. *Pathogenic trickery deception of host cell processes. Nature Rev.Mol. Cell Biol*. 2:578–588.
- Kohler, G., and C. Milstein. 1975. *Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature* 256:495.
-

www.bbooks.ir

- Kohn, D. B. 2001. *Gene therapy for genetic haematological disorders and immunodeficiencies. J. Int.Med*. 249:379.
- Koller, B. H., and O. Smithies. 1992. *Altering genes in animals by gene targeting. Annu. Rev. Immunol*. 10:705.
- Kraehenbuhl, J. P., and M. R.Neutra. 1992.*Transepithelial transport and mucosal defence II: secretion of IgA. Trends Cell Biol*. 2:134.
- Krause, R. M., et al. 1997. *Summary of antibody workshop: The role of humoral immunity in the treatment and prevention of emerging and extant infectious diseases. J. Infect. Dis*. 176:549.
- Kufe, D. W. 2000. *Smallpox, polio and now a cancer vaccine? Nature Med*. 6:252
- Kuhn, R., K. Rajewsky, and W. Muller. 1991. *Generation and analysis of interleukin-4 deficient mice. Science* 254:707.
- Kuijpers, T.W., et al. 1997. *Leukocyte adhesion deficiency type 1(LAD-1)/variant. A novel immunodeficiency syndrome characterized by dysfunctional beta2 integrins. Journal of Clinical Investigation* 100:1725.
- Kunkel, E. J., and E. C. Butcher. 2002. *Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. Imm*unity 16:1.
- Lachmann, P. J., and A. Davies. 1997. *Complement and immunity to viruses. Immunol. Rev*. 159:69.
- Lamm, M. E. 1997. *Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. Annu. Rev.Microbiol*. 51:311.
- Landsteiner, K. 1947. *The Specificity of Serologic Reactions.* Harvard University Press, Cambridge,Massachusetts.
- Lane, H. C., et al. 2001. *Bioterrorism: A clear and present danger. Nature Med*. 7:1271.
- Lanzavecchia, A., G. Lezzi, and A. Viola. 1999. *From TCR engagement to T-cell activation: a kinetic view of T-cell behavior*. Cell 96:1.
- Laurent, J., and M. T.Guinnepain. 1999. *Angioedema associated with C1 inhibitor deficiency. Clin. Rev. Allergy. & Immunol*. 17:513.
- Laver,W. G., G. M. Air, R. G.Webster, and S. J. Smith-Gill. 1990. *Epitopes on protein antigens: misconceptions and realities. Cell* 61:553.

www.bbooks.ir

- Lawson, P. R., and K. B. Reid. 2000. The roles of surfactant proteins A and D in innate immunity. *Immunologic Reviews* **173:**66.
- Lekstrom-Himes, J. A., and J. I. Gallin. 2000. *Advances in immunology: immunodeficiency diseases caused by defects in phagocytes.N. Engl. J. Med*. 343:1703.
- Lenschow, D. J., et al. 1992. *Long-term survival of xenogeneic pancreatic islets induced by CTLA4-Ig. Science* 257:789.
- Levin, M. C., et al. 2002. *Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease*. Nat Med. 8:509.
- Liblau, R. S., S. M. Singer, and H. O. McDevitt. 1995. *TH1 and TH2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. Immunol. Today* 16:34.
- Lindahl,G.,U. Sjobring, and E. Johnsson. 2000. *Human complement regulators: a major target for pathogenic microorganisms. Curr. Opin. Immunol*. 12:44.
- Liu,Y. J. 2001. *Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity*. Cell 106:259.
- Lockshin,M. D. 1998.*Why women? J. Am. Med.Womens Assoc*. 53:4.
- Lokki, M. L., and H. R. Colten. 1995. *Genetic deficiencies of complement. Ann.Med*. 27:451.
- Long, E. O. 1999. *Regulation of immune responses through inhibitory receptors. Annu. Rev. Immunol*. 17:875–904.
- Lorenzo, M. E., H. L. Ploegh, and R. S. Tirabassi. 2001.*Viral immune evasion strategies and the underlying cell biology. Semin. Immunol*. 13:1–9.
- Louis, J., et al. 1998. *Regulation of protective immunity against Leishmania major in mice. Curr. Opin. Immunol*. 10:459.
- Lympany, P., et al. 1992. *Genetic analysis of the linkage between chromosome 11q and atopy. Clin. Exp. Allergy* 22:1085.
- Madden, D. R. 1995. *The three-dimensional structure of peptide-MHC complexes. Annu. Rev. Immunol.* 13:587.
- Malech,H. L., et al. 1997. *Prolonged production of NADPH oxidase-corrected granulocytes after gene therapy of chronic granulomatous disease. Proc. Natl. Acad. Sci*. USA 94:12133.

www.bbooks.ir

- Maloney, D. G., et al. 1997. *IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed lowgrade non-Hodgkin's lymphoma. Blood* 90:2188.
- Manis, J. P.,M. Tian, and F.W.Alt. 2002. *Mechanism and control of class-switch recombination. Trends Immunol*. 23:31.
- Margulies, D. 1999. *The major histocompatibility complex. In Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.
- Markees, T. G., et al. 1997. *Prolonged survival of mouse skin allografts in recipients treated with donor splenocytes and antibody to CD40 ligand. Transplantation* 64:329.
- Marsh, D. G., et al. *The Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). 1997. A genome-wide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. Nat. Genet.* 15:389.
- Marsh,D. G., et al. 1994. *Linkage analysis of IL-4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. Scienc*e 264:1152.
- Mascola, J. R., and G. J. Nabel. 2001.*Vaccines for the prevention of HIV-1 disease. Curr. Opinion in Immunol*. 13:489.
- Matsuda J. L., and M. Kroneberg. 2001. *Presentation of self and microbial lipids by CD1 molecules. Curr. Opinion in Immunol.* 13:19.
- Matsuda, F., K. Ishii, P. Bourvagnet, Ki Kuma, H. Hayashida, T. Miyata, and T.Honjo. 1998. *The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus. J. Exp.Med*. 188:2151.
- Matsumoto, M., et al. 1997. *Abrogation of the alternative complement pathway by targeted deletion of murine factor B. Proc.Natl. Acad. Sci*. U.S.A. 94:8720.
- Matsuuchi, L., and M. R. Gold. 2001. *New views of BCR structure and organization. Curr. Opin. Immunol*. 13:270.
- Max, E. E. 1998. *Immunoglobulins: molecular genetics. In Fundamental Immunology*, 4th ed., W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.

www.bbooks.ir

- McCune, J. M., et al. 1988. *The SCID-Hu mouse; murine model for analysis of human hematolymphoid differentiation and function. Science* 241:1632.
- Medawar, P. B. 1958. *The Immunology of Transplantation. The Harvey Lectures 1956–1957.* Academic Press, New York.
- Medzhitov, R., and C. A. Janeway. 2000. Innate immunity. *N.Eng. J.Med.* **343:**338.
- Meffre, E., R. Casellas, and M. C. Nussenzweig. 2000. *Antibody regulation of B-cell development. Nature Immunology* 1:379.
- Meinl, E., et al. 1995. *Immortalization of human T cells by herpesvirus saimiri. Immunol. Today* 16:55.
- Melchers, F., and A. Rolink. 1999. *B-lymphocyte development and biology*. In Fundamental Immunology, 4th ed.,W. E. Paul, ed., p. 183. Lippincott-Raven, Philadelphia.
- Melchers, F., and A. Rolink. 1999. *B-lymphocyte development and biology. In Fundamental Immunology*, 4th ed., edited by W. E. Paul. Lippincott-Raven, Philadelphia and New York.
- Melton, D. W. 1994. *Gene targeting in the mouse. BioEssays* 16:633.
- Metchnikoff, E. 1905. *Immunity in the Infectious Diseases.*MacMillan, New York.
- Metzger, H. 1999. *It's spring, and thoughts turn to . . . allergies. Cell* 97:287.
- Meyer, D., and G. Thompson. 2001. *How selection shapes variation of the human major histocompatibility complex: a review. Ann. Hum. Genet*. 65:1.
- Mills, F. C., N. Harindranath, M.Mitchell, and E. E.Max. 1997. *Enhancer complexes located downstream of both human immunoglobulin C alpha genes. J. Exp.Med*. 186:845.
- Mims, C.A. 1987. *Pathogenesis of Infectious Disease*, 2nd ed.Academic Press, New York.
- Moir, S., et al. 2001. *HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals. Proc. Natl Acad Sci*. 98:10362.
- Molina, H., and V. M.Holers. 1996. *Markedly impaired humoral immune response in mice deficient in complement receptors 1 and 2. Proc. Natl. Acad. Sci*. U.S.A. 93:3357.

www.bbooks.ir

- Mollnes, T. E., and A. E. Fiane. 1999. *Xenotransplantation: how to overcome the complement obstacle? Mol. Immunol*. 36:269.
- Mossman, T. R., H. Cherwinski,M.W. Bond, M. A. Gledlin, and R. L. Coffman. 1986. *Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J. Immunology* 136:2348.
- Muller-Eberhard, H. J. 1988. *Molecular organization and function of the complement system. Annu. Rev. Biochem*. 57:321.
- Myung, P. S., N. J. Boerthe, and G. A. Koretzky. 2000. *Adapter proteins in lymphocyte antigen-receptor signaling.Curr.Opin. Immunol*. 12:256.
- Natarajan, K., et al. 1999. *MHC class I molecules, structure and function. Revs. in Immunogenetics* 1:32.
- Natarajan, K., et al. 2002. *Structure and function of natural killer-cell receptors: multiple molecular solutions to self, nonself discrimination. Annu. Rev. Immunol*. 20:853.
- Nathan, C., and M. U. Shiloh. 2000. *Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens.* Proc. Natl. Acad. Sci. 97:8841.
- Newman, J. 1995. *How breast milk protects newborns. Sci. Am.* 273(6):76.
- Nielsen, C. H., E. M. Fischer, and R. G. Q. Leslie. 2000. *The role of complement in the acquired immune response. Immunology* 100:4.
- Nonaka, M. 2000. *Origin and evolution of the complement system. Curr. Top.Microbiol. Im*munol. 248:37.
- Novak, N., S. Kraft, and T. Bieber. 2001. *IgE receptors. Curr. Opinion in Immunol*. 13:721.
- O'Garra, A., L. Steinman, and K. Gijbels. 1997. *CD4+ T-cell subsets in autoimmunity. Curr. Opin. Immunol*. 9:872.
- Oettinger, M. A., et al. 1990. *RAG-1 and RAG-2, adjacent genes that synergistically activate V(D)J recombination. Science* 248:1517.
- Ortmann, B., et al. 1997. *A critical role for tapasin in the assembly and function of multimeric MHC class I–TAP complexes. Science* 277:1306.
- Osborne, B. A. 1996. *Apoptosis and the maintenance of homeostasis in the immune system. Curr. Opin. Immunol*. 8:245.

www.bbooks.ir

- Osborne, B., A. 2000. *Transcriptional control of T-cell development. Curr. Opin. Immunol*. 12:301.
- Otvos, L. 2000. Antibacterial peptides isolated from insects. *J.Peptide Sci.* **6:**497.
- Owen, J. J. T., and N. C. Moore. 1995. *Thymocyte–stromal-cell interactions and T-cell selection. Immunol. Today* 16:336.
- Pamer, E., and P. Cresswell. 1998. *Mechanisms of MHC class I restricted antigen processing. Annu. Rev. Immunol.* 16:323.
- Papavasiliou, F. N., and D. G. Schatz. 2002. *Somatic hypermutation of immunoglobulin genes. Merging mechanisms for genetic diversity*. Cell 109:S35.
- Pardoll, D. M. 1996. *Cancer vaccines: a road map for the next decade. Curr. Opin. Immunol*. 8:619.
- Parham, P. 1999. *Virtual reality in the MHC. Immunol. Revs*. 167:5.
- Paterson, Y., and G. Ikonomidis. 1996. *Recombinant Listeria monocytogenes cancer vaccines Curr. Opin. Immunol*. 8:651.
- Paul, W., ed. 1999. *Fundamental Immunology,* 4th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.
- Paul-Eugène, N., et al. 1993. *Functional interaction between β2-adrenoceptor agonists and interleukin-4 in the regulation of CD23 expression and release and IgE production in humans. Molec. Immunol*. 30:157.
- Pedersen, R. A. 1999. *Embryonic stem cells for medicine. Sci. Am.* 280:68.
- Peiser, L., S.Mukhopadhyay, and S. Gordon. 2002. *Scavenger receptors in innate immunity. Curr. Opin. Immunol*. 14:123.
- Picker, L. J., and M. H. Siegelman. 1999. *Lymphoid tissues and organs. In Fundamental Immunology*, 4th ed.,W. E. Paul, ed., p. 145. Lippincott-Raven, Philadelphia.
- Pickering, M. C., and M. J.Walport. 2000. *Links between complement abnormalities and system lupus erythematosus. Rheumatology* 39:133.
- Porcelli, S. A., and R. L.Modlin. 1999. *The CD1 System: Antigen presenting molecules for T-cell recognition of lipids and glycolipids. Ann. Rev. Immunol*. 17:297.

www.bbooks.ir

- Ramshaw, I. A., et al. 1997. *Cytokines and immunity to viral infections. Immunol. Rev*. 159:119.
- Rautemaa, R., and S.Meri. 1999. *Complement-resistance mechanisms of bacteria. Microbes and Infection/Institut Pasteur* 1:785.
- Rayhill, S. C., et al. 1996. *Simultaneous pancreas-kidney transplantation: recent experience at the University of Wisconsin. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 104:353.
- Razin, E., I. Pecht, and J. Rivera. 1995. *Signal transduction in the activation of mast cells and basophils. Immunol. Today* 16:370.
- Reinherz, E., et al. 1999. *The crystal structure of a T-cell receptor in complex with peptide and MHC class II. Science* 286:1913.
- Reiser, J-B., et al. 2000. *Crystal structure of a T-cell receptor bound to an allogeneic MHC molecule. Nature Immunology* 1:291.
- Rengarajan, J., S. J. Szabo, and L. H. Glimcher. 2000. *Transcriptional regulation of ThH1/ThH2 polarization. Immunol. Today* 10:479–483.
- Reth, M. 1995. *The B-cell antigen receptor complex and coreceptor. Immunol. Today* 16:310.
- Richmond, D. D. 2001. *HIV chemotherapy. Nature 410:995.*
- Robertson, B. D., and T. F. Meyer. 1992. *Genetic variation in pathogenic bacteria. Trends Genet*. 8:422.
- Roche, P. A. 1999. *Intracellular protein traffic in lymphocytes: "How do I get there from here?" Immunity* 11:391.
- Roitt, I. M., and P. J. Delves, eds. 1998. *An Encyclopedia of Immunology,* 2nd ed., vols. 1–4. Academic Press, London.
- Romagnani, S. 2001. *T-cell responses in allergy and asthma. Curr. Opin. in Allergy & Clin. Immunol*. 1:73.
- Rose, N. R. 1998. *The role of infection in the pathogenesis of autoimmune disease. Semin. Immunol*. 10:5.
- Rose, N. R., E. C. de Macario, J. D. Folds, C. H. Lane, and R. M. Nakamura. 1997. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. American Society of Microbiology,Washington, D.C.
- *Rosenberg, S. A, et al. 1994. Treatment of patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin 2. Journal of the National Cancer Institute* 86:1159.

www.bbooks.ir

- Rosenberg, S. A. 2001. *Progress in human tumour immunology and immunotherapy. Nature 411:380.*
- Rosenstreich,D. L., et al. 1997. *The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma.N. Engl. J. Med*. 336:1356.
- Rosenthal, S. R., et al. 2001. *Developing new smallpox vaccines. Emerging Inf. Dis*. 7:920.
- Rothenberg, B. E., and J. R.Voland. 1996. *Beta 2 knockout mice develop parenchymal iron overload: A putative role for class I genes of the major histocompatibility complex in iron metabolism. Proc. Natl. Acad. Sci*. U.S.A. 93:1529.
- Rothenberg, E.V. 2000. *Stepwise specification of lymphocyte developmental lineages. Current Opin. Gen. Dev*. 10:370.
- Rouas-Freiss, N., et al. 1997. *Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytolysis. Proc. Natl. Acad. Sci*. U.S.A. 94:11520.
- Russell, J.H., and T. J. Ley. 2002. *Lymphocyte-mediated cytotoxicity. Annu. Rev. Immunol*. 20:370.
- Sahin, U., O. Tureci, and M. Pfreundschuh. 1997. *Serological identification of human tumor antigens. Curr. Opin. Immunol*. 9:709.
- Salomon, B., and J. A. Bluestone. 2001. *Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation.Annu. Rev. Immunol*. 19:225.
- Sauer, B. 1998. *Inducible gene targeting in mice using the Cre/lox system. Methods* 14:381.
- Schlessinger, D. 1990. *Yeast artificial chromosomes: tools for mapping and analysis of complex genomes. Trends Genet*. 6(8):254.
- Schreiber, S. L., and G. R. Crabtree. 1992. *The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. Immunol. Today* 13:136.
- Schulze A., and J. Downward. 2001. *Navigating gene expression using microarrays—a technology review*. Nat Cell Biol. 3:E190-5.
- Scott, P. 1998. *Differentiation, regulation, and death of T helper cell subsets during infection with Leishmania major. Immunol. Res*. 17:229.

www.bbooks.ir

- Shaffer A. L., A. Rosenwald, E. M.Hurt, J.M.Giltnane, L. T. Lam, O. K. Pickeral, and L. M. Staudt. 2001. *Signatures of the immune response. Immunity* 15:375-85.
- Shann, F., and M. C. Steinhoff. 1999. *Vaccines for children in rich and poor countries. Lancet*. 354(Suppl. II):7.
- Sharpe, A.H. 1995. *Analysis of lymphocyte costimulation in vivo using transgenic and knockout mice. Curr. Opin. Immunol*. 7:389.
- Sher, A., and R. L. Coffman. 1992. *Regulation of immunity to parasites by T cells and T-cell derived cytokines. Annu. Rev. Immunol*. 10:385.
- Shuster, D. E., et al. 1992. *Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. Proceedings of the National Academy of Sciences* (USA) 89:9225.
- Silverstein, A. M., and N. R. Rose. 1997. *On the mystique of the immunological self. Immunol. Rev*. 159:197.
- Sklar, J., et al. 1988. *Applications of antigen-receptor gene rearrangements to the diagnosis and characterization of lymphoid neoplasms. Ann. Rev.Med*. 39:315.
- Sloand, E. M., et al. 1998. *Correction of the PNH Defect by GPIanchored protein transfer. Blood* 92:4439.
- *Smart, B. A., and H. D. Ochs. 1997. The molecular basis and treatment of primary immunodeficiency disorders. Curr. Opin. Pediatr*. 9:570.
- Springer, T. A. 1994. *Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. Cell* 76:301.
- Srivastava, S. 2002. *Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. Nature Rev. Immunol*. 2:185.
- Stanfield, R. L., and I. A.Wilson. 1995. *Protein-peptide interactions. Curr. Opin. Struc. Biol.* 5:103.
- Steel, D. M., and A. S.Whitehead. 1994. *The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. Immunol. Today* 15:81.
- Steinman, L., J. R. Oskenberg, and C. C. A. Bernard. 1992. *Association of susceptibility to multiple sclerosis with TCR genes. Immunol. Today* 13:49.

www.bbooks.ir

- Stites,D. P., C. Rodgers, J.D. Folds, and J. Schmitz. 1997. *Clinical laboratory detection of antigens and antibodies. In Medical Immunology*, 9th ed., D. P. Stites, A. I. Terr, and T. G. Parslow, eds., Appelton and Lange, Stamford, CT.
- Streilein, J.W., M. R. Dana, and B. R. Ksander. 1997. *Immunity causing blindness: five different paths to herpes stromal keratitis. Immunol. Today* 18:443.
- Sutter, R. W., et al. 2000. *Poliovirus vaccines: progress toward global poliomyelitis eradication and changing routine immunization recommendations in the United States. Ped. Clinics of North America* 47:287.
- Szabo, S. J. et al. 2000. *A novel transcription factor, T-bet, directs TH1 lineage commitment. Cell* 100:655–669.
- Tainer, J. A., et al. 1985. *The atomic mobility component of protein antigenicity. Annu. Rev. Immunol*. 3:501.
- Takahashi, H., et al. 1990. *Induction of $CD8^+$ cytotoxic T cells by immunization with purified HIV-1 envelope protein in ISCOMS. Nature* 344:873.
- Teixeira,M.M., T. J.Williams, and P. G.Hellewell. 1995. *Mechanisms and pharmacological manipulation of eosinophil accumulation. Trends Pharmacol. Sci*. 16:418.
- Theofilopoulos, A. N. 1995. *The basis of autoimmunity. Part I: Mechanisms of aberrant self-recognition. Immunol. Today* 16:90.
- Theofilopoulos, A. N. 1995. *The basis of autoimmunity. Part II: Genetic predisposition. Immunol. Today* 16:150.
- Thomas, P., et al. 1992. *Glycosylation-inhibiting factor from human T cell hybridomas constructed from peripheral blood lymphocytes of a bee venom–sensitive allergic patient. J. Immunol*. 148:729.
- Thompson, C. B. and J. C. Rathmell. 1999. *The central effectors of cell death in the immune system. Annu. Rev. Immunol*. 17:781.
- Tindle, R.W. 1996. *Human papillomavirus vaccines for cervical cancer. Curr. Opin. Immunol*. 8:643.
- Tonegawa, S. 1983. *Somatic generation of antibody diversity. Nature* 302:575.
- Turner, M. W. 1998. *Mannose-binding lectin (MBL) in health and disease. Immunobiol*. 199:327.

www.bbooks.ir